



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Caracterización clínica y anatomopatológica de la intoxicación por *Enterolobium cyclocarpum* en el ganado bovino en los Llanos Orientales de Colombia

Leonardo Roa

**Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Bogotá, Colombia
2016**

Caracterización clínica y anatomopatológica de la intoxicación por *Enterolobium cyclocarpum* en el ganado bovino en los Llanos Orientales de Colombia

Leonardo Roa

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de: Magister en Salud Animal

**Director:
Médico Veterinario Zootecnista MSc. Benjamín Doncel Díaz**

**Línea de Investigación:
Fisiopatología Veterinaria
Grupo de Investigación:
Patobiología Veterinaria**

**Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia
Departamento de Salud Animal
Bogotá, Colombia
2016**

A mi querida familia, motor de mi vida.

Agradecimientos

El Autor agradece a la Universidad Nacional de Colombia por proporcionar los elementos necesarios para su formación, especialmente al Laboratorio de Patología Veterinaria y al Dr. Benjamín Doncel Díaz, no solo por su guía y orientación, sino por ser un ejemplo de fortaleza, dedicación y compromiso. A los Dres. María Constanza Lozano, Carlos Moreno, Héctor Julio Rincón, Camilo Oicatá y Carlos Sánchez por facilitar el desarrollo de varios aspectos metodológicos. Al laboratorio clínico veterinario de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia por el procesamiento de las muestras. Al profesor Danny Sanjuanelo de la U.D.C.A. y al señor Verney Sua, administrador de la hacienda Hato casona.

Resumen

El potencial toxico del fruto del *E. cyclocarpum* fue evaluado experimentalmente en bovinos de los Llanos Orientales de Colombia. 12 bovinos fueron distribuidos como sigue: Grupo 1, control, consumió forraje fresco y los otros grupos expuestos, consumieron el fruto en dosis establecidas previamente, Grupo 2, 10 g/kg PV/ dosis única, Grupo 3, 10 g/kg PV diaria y el Grupo 4, 20 g/kg PV diaria. Fase experimental proyectada 15 días. Se hizo examen clínico, evaluación paraclínica (hemograma y química sérica), necropsia e histopatología. Los animales desarrollaron dos formas de presentación clínica: 1) Aguda con alteraciones digestivas, dermatológicas, renales y nerviosas. 2) Subcrónica con alteraciones en los mismos sistemas pero menor grado de severidad y algunas transitorias. Microscópicamente hubo lesiones en el hígado, piel, pre-estómagos y riñón (lesiones necróticas, degenerativas, inflamatorias y microcirculatorias); en adición, hubo aumento de AST, BUN, creatinina y fibrinógeno. Los signos clínicos, lesiones anatomopatológicas y las alteraciones en la patología clínica las mostraron los grupos expuestos a *E. cyclocarpum* y fueron consecuencia de la inflamación, afección hepática y azotemia. Las lesiones clínicas y patológicas fueron más severos en los animales expuestos a mayor dosis y frecuencia. En conclusión, el *E. cyclocarpum* es tóxico para los bovinos bajo las condiciones agroecológicas de los Llanos Orientales de Colombia.

Palabras clave: Colombia, *Enterolobium cyclocarpum*, plantas toxicas

Abstract

The toxic potential of *E. cyclocarpum* fruits was evaluated experimentally in cattle in the eastern plains of Colombia. Twelve cattle were distributed as follows: Group 1, control animals consumed fresh fodder and other exposed groups consumed the fruit in doses previously established, Group 2, 10 g/kg BW / single dose, Group 3, 10 g/kg BW daily and Group 4, 20 g/kg BW daily during 15 days of experimental period. Clinical examination, clinical pathology (hematology and serum chemistry), necropsy and histopathology were conducted. The animals developed two clinical presentations: 1) Acute toxicity with digestive, skin, kidney and nervous disorders. 2) Subchronic toxicity with alterations in the same systems but less severe and some transient. Microscopically there were lesions in the liver, skin, kidney and pre-stomachs (necrotic lesions, degenerative, inflammatory and microcirculatory changes); in addition, there was increased AST, BUN, creatinine and fibrinogen. Clinical signs, pathological lesions and clinical pathology's alterations were observed in animals exposed to *E. cyclocarpum* and included inflammation, liver disease and azotemia. The clinical and pathological lesions were more severe in animals exposed to high doses and frequency of *E. cyclocarpum* fruit supply. In conclusion, *E. cyclocarpum* is toxic to cattle under the ecological conditions of the Eastern Plains of Colombia.

Keywords: Colombia, *Enterolobium cyclocarpum*, toxic plants.

Contenido

| | Pág. |
|--|-------------|
| Resumen | IX |
| Lista de figuras..... | XIII |
| Lista de tablas | XV |
| Lista de Símbolos y abreviaturas..... | XVI |
| Introducción | 1 |
| Referencias..... | 3 |
| Capítulo 1. Intoxicación por <i>E. cyclocarpum</i> en bovinos, importancia en Colombia - | |
| Artículo de revisión | 5 |
| 1.1 Introducción | 5 |
| 1.2 Toxicología por especies vegetales en Colombia | 6 |
| 1.3 El género <i>Enterolobium</i> | 8 |
| 1.4 <i>Enterolobium cyclocarpum</i> en Colombia | 9 |
| 1.5 Aspectos fitoquímicos de <i>E. cyclocarpum</i> | 10 |
| 1.6 Efectos de los metabolitos de <i>E. cyclocarpum</i> sobre los sistemas orgánicos..... | 11 |
| 1.7 Referencias | 13 |
| Capítulo 2. Caracterización clínica de la exposición experimental a <i>E. cyclocarpum</i> | |
| en el ganado bovino en Colombia..... | 19 |
| 2.1 Introducción..... | 19 |
| 2.2 Materiales y métodos..... | 21 |
| 2.3 Resultados | 25 |
| 2.4 Discusión..... | 32 |
| 2.5 Referencias | 35 |
| Capítulo 3. Patología de la exposición experimental a <i>E. cyclocarpum</i> en el ganado | |
| bovino en Colombia | 38 |
| 3.1 Introducción..... | 38 |
| 3.2 Materiales y métodos | 39 |
| 3.3 Resultados | 42 |
| 3.4 Discusión..... | 52 |
| 3.5 Referencias | 55 |
| Capítulo 4. Discusión general | 57 |
| 4.1 Referencias | 59 |

| | |
|---|-----------|
| Capítulo 5. Conclusiones y recomendaciones | 61 |
| 5.1 Conclusiones | 61 |
| 5.2 Recomendaciones | 62 |

Lista de figuras

| Capítulo 1 | Pág. |
|--|------|
| Figura 1-1 Esquema general del metabolismo primario y secundario de las plantas..... | 13 |
| Capítulo 2 | |
| Figura 2-1 <i>E. cyclocarpum</i> , frutos maduros | 21 |
| Figura 2-2 Principales hallazgos clínicos y grado de severidad en bovinos expuestos a <i>E. cyclocarpum</i> | 26 |
| Figura 2-3 Hallazgos clínicos en bovinos expuestos a <i>E. cyclocarpum</i> | 27 |
| Figura 2-4 Alteraciones neurológicas en bovinos expuestos a <i>E. cyclocarpum</i> | 27 |
| Figura 2-5 Lesiones dermatológicas en bovinos expuestos a <i>E. cyclocarpum</i> | 28 |
| Figura 2-6 Variaciones del BUN de bovinos expuestos a <i>E. cyclocarpum</i> | 30 |
| Figura 2-7 Variación en los niveles de AST de bovinos expuestos a <i>E. cyclocarpum</i> | 31 |
| Figura 2-8 Variación en los niveles de creatinina de bovinos expuestos a <i>E. cyclocarpum</i> | 32 |
| Capítulo 3 | |
| Figura 3-1 <i>E. cyclocarpum</i> , frutos maduros | 40 |
| Figura 3-2 Hallazgos de necropsia en bovinos expuestos a <i>E. cyclocarpum</i> | 43 |
| Figura 3-3 Hallazgos en los pre-estómagos, abomaso e hígado en bovinos expuestos a <i>E. cyclocarpum</i> | 44 |
| Figura 3-4 Principales lesiones histológicas del tracto digestivo y grado de severidad en bovinos expuestos a <i>E. cyclocarpum</i> | 45 |
| Figura 3-5 Rumen y yeyuno de bovinos expuestos a <i>E. cyclocarpum</i> | 46 |
| Figura 3-6 Hígado. Lesiones histológicas y grado de severidad en bovinos expuestos a <i>E. cyclocarpum</i> | 47 |
| Figura 3-7 Hígado de bovinos expuestos a <i>E. cyclocarpum</i> | 48 |
| Figura 3-8 Piel. Lesiones y grado de severidad en bovinos expuestos a <i>E. cyclocarpum</i> | 49 |
| Figura 3-9 Piel de bovinos expuestos a <i>E. cyclocarpum</i> | 50 |

Lista de tablas

| | Pág. |
|---|------|
| Capítulo 1 | |
| Tabla 1-1. Principales metabolitos secundarios del <i>E. cyclocarpum</i> según diferentes autores..... | 11 |
| Capítulo 2 | |
| Tabla2-1. Grupos experimentales. | 22 |
| Tabla 2-2. Parámetros definidos para la culminación del periodo experimental..... | 24 |
| Tabla 2-3. Alteraciones clínicas en bovinos expuestos a <i>E. cyclocarpum</i> | 25 |
| Tabla 2-4. Principales hallazgos del hemograma en bovinos expuestos a <i>E. cyclocarpum</i> | 29 |
| Capítulo 3 | |
| Tabla 3-1. Grupos experimentales. | 41 |
| Tabla 3-2. Parámetros definidos para la culminación del periodo experimental..... | 42 |

Lista de Símbolos y abreviaturas

| | |
|-----------|---|
| PV | Peso vivo |
| EDTA | Ácido etilendiamonotetracético |
| h | Hora |
| g/kg | gramos por kilogramo |
| g/dl | gramos por decilitro |
| UI/l | Unidades internacionales por litro |
| µg/kg | microgramos por kilogramo |
| BUN | Blood Ureic Nitrogen (Nitrógeno ureico sanguíneo) |
| CREA | Creatinina |
| AST | Aspartato amino transferasa |
| H&E | Hematoxilina y eosina |
| GPS | Sistema de posicionamiento global |
| m s. n. m | Metros sobre el nivel del mar |
| MN | Mononucleares |
| PMN | Polimorfonucleares |

Introducción

Es bien conocido el efecto tóxico de algunas plantas en la ganadería bovina, en Colombia las intoxicaciones por plantas son frecuentes en sistemas de producción extensivos, en especial en la altillanura plana, serranía y áreas inundables caracterizadas por baja disponibilidad de forrajes; la mayoría son pastos naturales (sabanas) y mejorados como el *Brachiaria* sp. (Gómez et al., 2000). En Colombia no hay estudios precisos y actualizados del cálculo de las pérdidas económicas por intoxicaciones con plantas, los reportes del cálculo de las pérdidas por esta causa son escasos. Peña (1982) estimaron que la mortalidad anual de bovinos en Colombia por plantas tóxicas fue cercana al 0.5 % equivalente a 130.000 animales por año. Torres et al. (1983) reportó pérdidas aproximadas a los \$2000 millones de pesos anuales: representadas en la mayoría por muertes súbitas, abortos, otros trastornos asociados con la reproducción, descartes por la disminución en los parámetros productivos, cuadros crónicos en diferentes sistemas orgánicos que desencadenan estados consuntivos con deterioro de la salud animal, muerte y costos adicionales por la instauración de tratamientos de tipo paliativo, medidas de control y profilaxis como lo reportan otros autores (Riet-Correa and Madeiros, 2001). Lozano et al. (2011) hicieron una aproximación para la región de la Orinoquia, estimaron la mortalidad cercana al 5,3% del total calculado para la región, aproximadamente 35.000 cabezas al año. Una orientación acertada en el manejo de la flora que existe en las diversas áreas de producción bovina favorece la salud animal, permite mejorar los índices productivos, genera beneficios a los pequeños y grandes productores.

En Brasil, se considera que entre 800.000 y 1.120.000 cabezas de ganado mueren anualmente por causa de la intoxicación con plantas (Tokarnia et al., 2002). La mayoría de estudios toxicológicos por especies vegetales en nuestro país corresponden al tipo observacional e identificación de algunas plantas que en otras partes del mundo fueron confirmadas como tóxicas. En Colombia se desconoce el potencial tóxico de la mayoría de plantas identificadas como posiblemente tóxicas para los bovinos bajo las condiciones

agroecológicas del país. Así mismo, en Colombia existen diversas especies de plantas que según campesinos, ganaderos y médicos veterinarios tienen alguna acción tóxica pero sin demostrar en nuestro medio y el exterior. De acuerdo con lo anterior se propone que existe flora no identificada como tóxica en las regiones geográficas de Colombia bajo las condiciones ambientales, manejo y suelos propias de cada región.

En América y especialmente en Brasil se describe el efecto tóxico de algunas especies de *Enterolobium* sp, como *E. gummiferum* y *E. contortisiliquum*, relacionados a cuadros digestivos o abortivos (Mello et al., 2010). En el trabajo de Mendonça et al. (2009) en el estado de Matto Grosso – Brasil se describe la intoxicación experimental con vainas de *E. contortisiliquum* identificada como tóxica para bovinos y caprinos, utilizaron una dosis de 5, 9 y 12 g/kg, encontraron alteraciones vasculares severas, degeneración hepática, ictericia pero no replicaron la fotosensibilización citada en brotes de campo.

Estudios en los departamentos de Meta y Casanare, desarrollados por la Universidad Nacional de Colombia identificaron mediante la aplicación de encuestas y el reconocimiento botánico, algunas plantas consideradas tóxicas; la planta más reconocida como tóxica para los bovinos pertenece a la Familia Fabaceae, sub-familia Mimosoideae y del Género *Enterolobium* sp., a este género le atribuyen varias alteraciones clínicas, morbilidad y mortalidad. El herbario Nacional la clasificó como *E. cyclocarpum* (Lozano et al., 2011). Esta planta es una especie útil en el sistema silvopastoril por el alto contenido proteico; se usa para alimentar el ganado durante los veranos intensos; como sombrío en regiones y departamentos como los Llanos Orientales, Magdalena Medio, Córdoba, Cesar y Guajira. El estudio de esta planta contribuye a la protección de la flora evitando la tala indiscriminada y la extinción.

El desconocimiento de las plantas y el impacto real en la salud animal conduce a fenómenos de deforestación al ser consideradas tóxicas y llevan a desequilibrios agroecológicos con posibles efectos en el ambiente. Adicionalmente, en Colombia no hay un sistema de diagnóstico y la metodología precisa que ayude a resolver las intoxicaciones por plantas. Con esta investigación se busca dejar las bases metodológicas del abordaje del problema tóxico para la especie vegetal, consolidar la información referente a los

aspectos clínicos, la patología clínica y el diagnóstico anatomopatológico.

Referencias

- Gómez M, Velásquez J, Miles J, Rayo F. 2000. Adaptación de *Brachiaria* al piedemonte amazónico Colombiano. *Past tropical* 22:19-25.
- Lozano MC, Doncel B, Moreno CA. 2011. Manual de plantas tóxicas para bovinos. Región Llanos orientales de Colombia: Meta y Casanare. Bogotá, Colombia. Editorial Universidad Nacional de Colombia.
- Mello GWS, Oliveira DM, Carvalho CJS, Pires LV., Costa FAL., Riet-Correa F, Silva, SMM. 2010. Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Norte Piauiense. *Pesq Vet Bras* 30:1-9.
- Mendonça FS, Neto J, Baratella B, Dória R, Freitas S, Pelegri L, Cruz R, Ferreira E, Colodel E. 2009. Natural and Experimental Poisoning of Cattle by *Enterolobium contortisiliquum* Pods (Fabaceae Mimosoideae) in Central-Western Brazil. *Acta Vet Brno.* 78: 621-625.
- Peña NE. 1982. Contribución a la epidemiología de la "Cromatosis bovina" en algunos municipios del Huila y Tolima (Colombia). *Rev Colom Cienc Pecu.* 4: 51- 63.
- Riet-Correa F, Medeiros RMT. 2001. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. *Pesq Vet Bras.* 21: 38-42.
- Tokarnia CH, Dobereiner J, Vargas P. 2002. Poisonous plants affecting livestock in Brazil. *Toxicon.* 40: 1635–1660.
- Torres JE, Echeverry R, Mejía B, Peña N. 1983. Cromatosis de los bovinos o "vaca morada" en Colombia. *Carta Ganadera.* 20: 25-30.

Capítulo 1. Intoxicación por *E. cyclocarpum* en bovinos, importancia en Colombia - Artículo de revisión

Leonardo Roa¹, Benjamín Doncel Díaz²

¹ Laboratorio de Patología Veterinaria- Facultad de Ciencias Pecuarias, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (U.D.C.A). Bogotá – Colombia

² Laboratorio de Patología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá

RESUMEN

En las décadas del 70 y el 80 en Colombia se desarrollaron trabajos cuyo objetivo fue la identificación de algunos cuadros tóxicos inducidos por especies vegetales propias de diferentes regiones de la geografía nacional. Durante los últimos 10 años en el mundo surgió de nuevo el interés por el reconocimiento de las especies vegetales, en especial en los países con crecimiento permanente del sector agropecuario debido al impacto económico negativo en los sistemas de producción ganadera, la seguridad alimentaria, la industria, el sector farmacéutico y veterinario; en la actualidad hay vacíos en la comprensión de los procesos fisiopatológicos, el desarrollo y consolidación de medios diagnósticos de los eventos de la intoxicación por plantas. Un estudio del año 2011 identificó la planta *Enterolobium cyclocarpum* como la especie vegetal con mayor impacto toxicológico en la ganadería de los Llanos Orientales de Colombia. Esta revisión resalta los principales aspectos del *Enterolobium* sp., relacionados con la intoxicación en bovinos, algunas características fitoquímicas y el efecto clínico y patológico en los sistemas orgánicos.

1.1 Introducción

La gran mayoría de problemas por toxicidad ocasionados por plantas en veterinaria ocurre por el desconocimiento de las especies vegetales en determinadas regiones, éste es el principal factor de riesgo (Knight and Walker, 2002). Las intoxicaciones por plantas son eventos accidentales por varias circunstancias; p. ej., ambientales y manejo; en el primero, cuentan las épocas de sequía y la contaminación ambiental (Naresh et al., 2006) y en el segundo, el sobrepastoreo de las praderas y el traslado de animales (Anjos et al., 2009; Botha and Penrith, 2008). Las plantas tóxicas tienen diferente efecto según el ciclo vegetativo, generalmente los cultivos jóvenes, la fase de floración y la producción de frutos generan mayores concentraciones de sustancias tóxicas. Por otra parte, algunas plantas, inclusive forrajeras son circunstancialmente tóxicas, especialmente si son contaminadas o parasitadas por diferentes especies de hongos (Araya, 2009). Los efectos tóxicos

dependen en gran parte del principio químico, la distribución y las condiciones propias de la especie animal afectada; la bovina la más susceptible, seguida la caprina y la ovina.

Los metabolitos de las plantas pueden causar graves afectaciones en animales como: abortos, mortalidad neonatal y muerte súbita (Assis et al., 2009). Algunos autores sostienen que los metabolitos secundarios protegen a las plantas de los animales herbívoros y otros organismos (Lima et al., 1999); otros los consideran productos intermedios de procesos metabólicos que resultan tóxicos para animales (Mello et al., 2010).

En algunos países de América establecieron las pérdidas económicas en los sistemas productivos ocasionadas por las plantas tóxicas, en resumen están representadas por: muertes súbitas, abortos, otros trastornos asociados con la reproducción, descartes por la disminución en los parámetros productivos, cuadros crónicos, muerte y los costos derivados de la instauración de tratamientos que resultan ser más de tipo paliativo (Riet-Correa and Madeiros, 2001).

La problemática por plantas tóxicas en países de Latinoamérica como Brasil, en donde llegó a ser comparada con las pérdidas económicas, reportadas para cuadros de rabia y botulismo. Se considera que entre 800.000 y 1.120.000 cabezas de ganado mueren en ese país anualmente a causa de intoxicación por plantas (Tokarnia et al., 2002). Un estudio en la década de los setentas en los Estados Unidos calculó pérdidas anuales por más de 100 millones de dólares solo en los estados del Este (Nielsen, 1978). En el estado de Sonora (México) identificaron al menos 59 especies tóxicas para el ganado que en 2008 generaron pérdidas estimadas en 90 millones de pesos mexicanos; las principales sustancias contenidas en tales vegetales fueron glucósidos cianogénicos, nitratos y ácido oxálico (Denogean et al., 2008). Los anteriores datos demuestran el problema causado por las plantas tóxicas con impacto negativo en los sistemas de producción bovina; por tal razón es necesario conocer las diferentes especies de plantas y descubrir las potencialidades de sus principios químicos (Moreno et al., 2010).

1.2 Toxicología por especies vegetales en Colombia

En Colombia no hay información actualizada respecto a la estimación de pérdidas

económicas por plantas tóxicas; sin embargo, existen algunos trabajos relacionados con la patología toxicológica veterinaria por plantas: Mora (1943) reprodujo la intoxicación con bejuco blanco (*Tanaecium exitiosum*) vegetal rico en glucósidos cianogénicos. Torres y Villafañe (1976) compilaron datos sobre sustancias tóxicas de varias plantas, los posibles hallazgos de necropsia y revisiones botánicas en algunas regiones del país. En la misma década el ICA publica una revisión de literatura de descripción morfológica, principios tóxicos y signos clínicos de algunas plantas tóxicas para la ganadería en la costa Atlántica (Threebilcok et al., 1976).

El trabajo de Peña (1982) cita avances en el enfoque epidemiológico de los problemas tóxicos por plantas en el país y relaciona la cromatosis bovina con factores ambientales y manejo. La cromatosis fue reproducida experimentalmente mediante la administración oral de la planta *Bunchosia pseudonitida* (mamei-tomatillo) a diferentes biomodelos animales (Torres et al., 1983). Tres especies de helechos fueron identificadas en 1988: *Pteridium aquilinum*, *Pityrogramma calomelanus* y *Adiantum tetraphyllum*, en ocho municipios de departamento del Caquetá (Torres et al., 1988). El estudio del levantamiento de la flora tóxica del Valle del alto Magdalena ilustra diversas especies tóxicas con altos contenidos de nitratos, nitritos, glucósidos cianogénicos entre otras sustancias, posiblemente responsables de los cuadros clínicos descritos en la región como fotosensibilización, caquexia muscular distrófica, cromatosis bovina, abortos y hematuria vesical; allí describieron 100 especies vegetales y destacan 24 del bosque húmedo tropical reconocidas como potencialmente tóxicas, sin confirmar, probablemente responsables de fotosensibilización, timpanismo, cuadros neurológicos y digestivos (Moreno et al., 1982).

En la década de los 90 hicieron el inventario e identificación de plantas tóxicas que podrían afectar la producción animal en la región de Ariari (Velásquez, 1997) y Arauca (Vargas, 1999); los trabajos reportan diversas familias vegetales (Apocinaceae, Asclepiadaceae, Convolvulaceae, Amaranthaceae, Leguminosae, Solanaceae, Verbenaceae, Rubiaceae y Graminaceae) las relacionaron con hematuria, fotosensibilización y muertes súbitas pero ninguna fue demostrada clínica o experimentalmente. La metodología utilizada fueron

encuestas e identificación botánica.

1.3 El género *Enterolobium*

Este género, descrito inicialmente por Carl Friedrich Philipp von Martius en 1837 incorpora 15 especies de ésta leguminosa de la familia Fabaceae (*E. barinense*, *E. barnebianum*, *E. contortisiliquum*, *E. cyclocarpum*, *E. ellipticum*, *E. glaziovii*, *E. guaraniticum*, *E. gummiferum*, *E. mangense*, *E. maximum*, *E. monjollo*, *E. oldemanii*, *E. saman*, *E. schomburgkii* y *E. timbouva*) distribuidas desde el sur de México hasta el norte de Argentina (GRIN, 2010). La diversidad genética es favorecida por los sistemas de polinización que llevan a entrecruzamientos, sugerido para la especie *E. contortisiliquum*, citan que algunas polillas jugarían un papel fundamental (Frankie et al., 2004; Hamrick and Apsit, 2004). Los árboles florecen desde finales del año hasta mayo y fructifican entre los meses de febrero y junio (Abreu et al., 2015). Los frutos de *Enterolobium* spp., son muy palatables y tienen gran valor nutricional; son ricos en carbohidratos estructurales poco lignificados, altamente digeribles y la semilla tiene elevado contenido de aminoácidos excepto los azufrados, especialmente, metionina y cistina (Cecconello, 2002). La describen como una legumbre con forma de vaina que junto con las semillas son adicionadas en las dietas en diferentes zonas de México, incluyen las vainas por el alto contenido de azúcares, Fe, Ca, P y los valores de la proteína que varían entre el 38 y 44% (Denogean et al., 2008).

Desde el punto de vista toxicológico, en América; en especial, en el Brasil describen la acción de *Enterolobium* spp., relacionada con disturbios digestivos o abortivos en bovinos y caprinos, como sucede con *E. contortisiliquum* (Mello et al., 2010). En el trabajo de Mendonça et al. (2009) en el estado de Matto Grosso – Brasil se reportó la intoxicación experimental con vainas de la misma especie al suministrar una dosis de 5, 9 y 12 g/kg a bovinos, encontraron alteraciones vasculares severas, degeneración hepática, ictericia ictericia pero no replicaron la fotosensibilización citada en brotes de campo.

En estudios más detallados evaluaron los efectos de dos triterpenos denominados enterolosaponinas A y B, extraídos de *E. contortisiliquum* (Mimaki et al., 2003), de estas, la enterolosaponina A exhibió fuerte actividad citotóxica sobre algunas líneas celulares, relacionada con la inducción de apoptosis. También reportaron siete saponinas

triterpénicas bidesmosódicas (contortisiliosidos) en esta especie, identificadas con las letras de la A – G, dos de ellas mostraron actividad citotóxica (A y C) (Mimaki et al., 2004). Adicionalmente, reportaron la enterolobina, una proteína hemolítica asociada también con cuadros de fotosensibilización, edemas, necrosis hepatocelular, signos de anorexia y depresión (Serratos, 2000) y un inhibidor de tripsina en el *E. contortisiliquum*, podría inhibir la capacidad de invasividad de las células tumorales (De Paula et al., 2012).

1.4 *Enterolobium cyclocarpum* en Colombia

E. cyclocarpum es un árbol nativo de diferentes regiones de América, crece en zonas de bosque seco tropical, especie arbórea reconocida por sus extraordinarias características de altura (alcanza aproximadamente 30 m), el fruto es color café con diámetro entre 8 y 10 cm (Benítez y Montesinos, 1988). Los usos son: agroforestal, agroindustrial, la industria química, farmacológica y alimentación animal (Tamayo, 1996). Es una planta brevidecdua (pierde sus hojas cuando fructifica). La fructificación inicia en febrero, los frutos alcanzan la madurez máxima de abril a julio. Es conocido con diversos nombres comunes entre estos: orejero, carito, cara caro, caro, caro caro, cara coro, matojiro, piñón de oreja (Colombia); guanacaste, parota (México); oreja de elefante (Jamaica); kara kara (Venezuela); tamboriuva, ximbó (Brasil).

En Colombia está distribuido en la Costa Atlántica y en los departamentos de Antioquia, Valle del Cauca, Huila, Tolima, Caquetá, Meta y Casanare. A pesar de la amplia distribución y potencial para diversas áreas del conocimiento, la mayoría de estudios realizados en el país corresponden a evaluaciones del potencial forrajero (Tamayo, 1996). Existen algunos reportes como agente defaunador y el efecto en la dinámica digestiva en bovinos; las saponinas son los metabolitos de mayor importancia por los efectos citotóxicos en protozoarios ruminales (Carmona, 2007); resultado controversial, ya que las concentraciones tóxicas de la planta en condiciones *in vitro* no alcanzan a defaunar *in vivo*, aunque hay reportes de reducción de la población de protozoarios totales (Díaz et al., 1995; Ivan et al., 2004; Navas et al., 1992). Existen escasos los reportes sobre el uso en la industria de alimentos (Jiménez et al., 2011).

En los Llanos Orientales de Colombia (Meta y Casanare) la planta más reconocida como tóxica para los bovinos fue el *E. cyclocarpum* (Lozano et al., 2011), basados en el anterior

estudio, Peña et al. (2011) evaluaron el cuadro de fotosensibilización en un modelo experimental y utilizaron cobayos (*Cavia porcellus*), suministraron harina del fruto pulverizado con el alimento, encontraron pérdida de peso, elevación en las enzimas de la función hepática y cambios microscópicos en el hígado (degeneración hidrópica) pero no replicaron la fotosensibilización; concluyeron que el tejido hepático es un órgano blanco; tal hallazgo es coherente y explicaría lo reportado para fotosensibilización (hepatotóxica) bovina.

1.5 Aspectos fitoquímicos de *E. cyclocarpum*

Las características fitoquímicas y las nutricionales de *E. cyclocarpum* varían de acuerdo con las condiciones ambientales, geográficas y edafológicas. Un estudio en la región de Autlán, Puerto Vallarta y Tomatlán – México, demostró variaciones en las características bromatológicas y fitoquímicas, sugirieron que las condiciones propias del suelo de cada región serían determinantes sobre las diferencias fitoquímicas (Barrientos et al., 2015)

Pizzani et al. (2006) sugirieron que la concentración de metabolitos secundarios en el tejido vegetal, es uno de los principales determinantes de la acción perjudicial para el animal y demostraron a través de tamizaje fitoquímico, los niveles elevados de saponinas, reacción positiva a alcaloides y cumarinas en los frutos de *E. cyclocarpum* en los Llanos Centrales de Venezuela.

El extracto acuoso del tallo de la planta contiene altas concentraciones de monoterpenos (D-limonene, terpineol y eugenol), fenoles y d-(+)-pinitol. La goma de la planta es rica en β -(1 \rightarrow 3)-galactano. Recientemente reportaron un activador de la O-GlcNAcase, la enterolacaciamina con acción sobre tres saponinas triterpénicas de la planta (concinnoside B, concinnoside D y julibroside A3) que regularían el proceso de glicosilación y liberan el de N-acetil glucosamina (Wang et al., 2015).

La Tabla 1-1, ilustra algunos metabolitos del *E. cyclocarpum*. Existen reportes de componentes antinutricionales como hemaglutininas, inhibidores de tripsina y glucósidos cianogénicos de *E. cyclocarpum* en las condiciones del suelo en la región de Colima - Mexico; adicionalmente en la corteza del tallo detectaron los triterpenos, ácido betulínico y veracruzol; el ácido machaerínico en la planta completa; lactona en la pulpa del fruto (Abd

and Nour, 1979; Bressani et al., 1966; Domínguez et al., 1979).

Tabla 1-1. Principales metabolitos secundarios de *E. cyclocarpum*.

| Sustancia | Efecto biológico | Fuente |
|--------------------------------|--|-----------------------|
| Saponinas triterpénicas | Hemolisis, incremento de la permeabilidad vascular, alteraciones de la membrana celular e inducción de la apoptosis. | Johnson et al., 1986 |
| Glucósidos cianogénicos | Inhibición citocromo oxidasa | Sotelo et al., 1978 |
| Ácido betulínico | Inducción de apoptosis por activación de caspasas | Soica et al., 2010 |
| Veracruzol, | Efectos sobre el metabolismo de azúcares y hormonas | Martínez et al., 2012 |
| Ácido machaerínico | | |
| Lactona | | |

1.6 Efectos de los metabolitos de *E. cyclocarpum* sobre los sistemas orgánicos

En el campo de la Patología Toxicológica incluyendo las plantas tóxicas debemos recordar los principios básicos de la toxicología como la toxicocinética y la toxicodinámica (Díaz y Lozano, 2006); esto implica el desarrollo de herramientas diagnósticas que permitan conocer la sustancia y el impacto de la misma sobre el individuo; sin embargo, requiere tener conocimiento previo, o la sospecha de la exposición a la potencial planta tóxica, los signos clínicos o datos de los parámetros de producción; debe incluir herramientas como encuestas, el apoyo de ciencias como la Botánica, la Patología y la Patología Clínica; aspectos necesarios para estructurar el proceso fisiopatológico.

Los terpenos son hidrocarburos insolubles en agua, la clasificación depende del número de carbonos y unidades de isoprenos (Cardozo, 2005). Las saponinas del *E. cyclocarpum* pertenecen al grupo de los triterpenos, disminuyen la tensión superficial y producen espuma al contacto con el agua. De otra parte, la liberación rápida de proteína soluble durante la masticación (Tanner et al., 1995) y el consumo de altas concentraciones de saponinas como las contenidas en *E. cyclocarpum*, son factores relacionados con la instauración del timpanismo espumoso (Wang et al., 2012). Adicionalmente tienen la capacidad de unirse al colesterol impidiendo su absorción (Salisbury and Ross, 1992), varios autores relacionan esta propiedad a la capacidad de reducción de los protozoarios ruminales, explicada por la unión al colesterol de la membrana celular de los protozoarios a través del grupo OH desencadenando la ruptura

y el efecto nocivo sobre diversos tipos de células (Van Soest, 1994). La estructura está compuesta por una porción aglicona y otra glicídica, la variación en estas porciones genera propiedades diversas sobre la célula y procesos biológicos (Costa et al., 2011).

Soica et al. (2010) demostraron el efecto de otros triterpenos del *E. cyclocarpum*, como el ácido betulínico como inductor de la apoptosis de diferentes tipos celulares, especialmente sobre algunas líneas tumorales de melanoma, por la activación de caspasas, acción favorecida por la alta solubilidad (Garai, 2014). La apoptosis y la detención del ciclo celular fueron eventos confirmados cuando se utilizaron extractos etanólicos de *E. cyclocarpum in vitro* (Sowemimo, 2015).

La inclusión de frutos de especies arbóreas en la dieta de bovinos de una región ganadera de Venezuela, entre ellas *E. cyclocarpum*; ocasionó signos clínicos frecuentes como: sialorrea, timpanismo, atonía ruminal, diarrea de diversas características (acuosa, sanguinolenta), deshidratación, fiebre y anorexia; los autores propusieron que los metabolitos secundarios de *E. cyclocarpum* tendrían efecto importante en el tubo digestivo y generarían variaciones del pH, alteración de la homeostasis de las superficies epiteliales, aumento de la permeabilidad vascular y cambios en la motilidad (Pizzani et al., 2006). Eventos clínicos como los antes citados desencadenarían trastornos electrolíticos tan severos que llevarían a alteraciones del equilibrio ácido – base, taquicardia, taquipnea y hasta la muerte (Wang et al., 2012).

Diversos metabolitos vegetales sufren biotransformación en el tejido hepático, causan lesiones en los hepatocitos o en las vías de excreción y alteran la función hepática (síntesis proteica, metabolismo de carbohidratos y lípidos entre otras). Negrón et al. (1993) administraron harina de *E. cyclocarpum* en ración mixta a bovinos en la región del Zulia – Venezuela y cuando Incluyeron el 75% de harina en la dieta; los animales expuestos desarrollaron problemas dermatológicos y algunas alteraciones hematológicas atribuidas a las saponinas; las alteraciones patológicas del hígado y de otros sistemas no fueron evaluadas; sin embargo, los signos clínicos reportados fueron relacionados con fotosensibilización.

A pesar del reconocido potencial tóxico de la planta, algunos autores, Zamora et al. (2001) recomiendan adiciones altas en la dieta obviando rangos seguros para el suministro de las especies vegetales no convencionales, puesto que ello podría representar riesgo de intoxicación, especialmente cuando el metabolismo primario (Figura 1-1) favorece la síntesis

de diversas sustancias como el ácido siquímico y el acetato, a partir de las cuales y durante el metabolismo secundario se obtienen sustancias como compuestos aromáticos, ácidos grasos, policétidos, terpenos, isoprenoides, alcaloides y antibióticos peptídicos (Piñol et al., 2000).

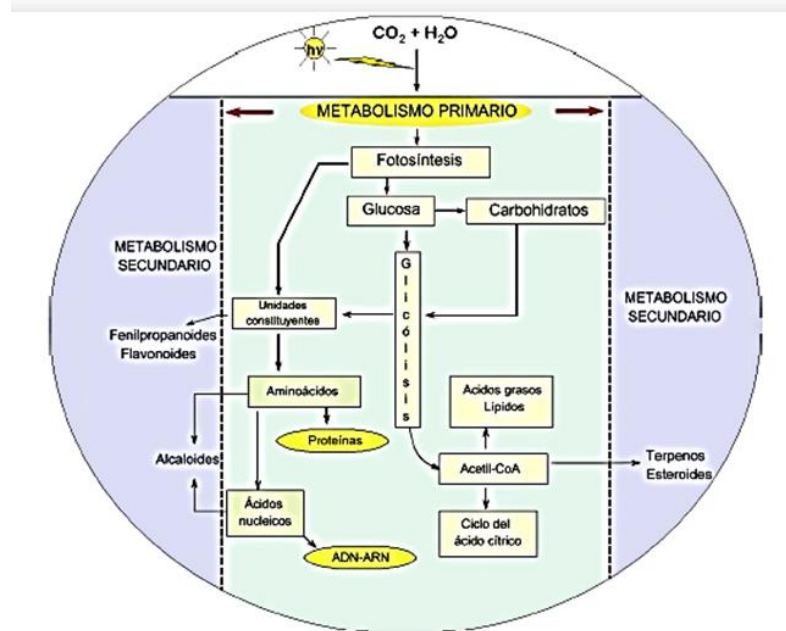


Figura 1-1. Esquema general del metabolismo primario y secundario de las plantas (Avalos y Pérez, 2009).

Es fundamental ampliar el conocimiento del efecto tóxico de *E. cyclocarpum* en bovinos, órganos y tejidos afectados bajo las condiciones agroecológicas de los sistemas de producción colombianos.

1.6.1 Referencias

Abd EA, Nour SA. 1979. Correlation between the spermicidal activity and the hemolytic index of certain plant saponins. Pharmazie 34: 560 – 571.

- Abreu A, Malveira M, Hayashida N, Alves D, Fernandes W. 2015. Genetic diversity and structure of the tree *Enterolobium contortisiliquum* (Fabaceae) associated with remnants of a seasonally dry tropical forest Flora. 210: 40–46.
- Anjos BL, Irigoyen LF, Piazer JV, Brum JS, Ighera RA, Barros CSL. 2009. Intoxicação experimental por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos. Pesq Vet Bras 29: 753-766.
- Araya O. 2009. Árboles, arbustos y malezas tóxicas. En: Araya O (ed). Plantas toxicas y micotoxicosis para el ganado en Chile. 1a ed. Trama Impresores S.A, Hualpén, Chile.
- Assis T, Medeiros R, Allan J, Antonio FM, Riet-Correa F. 2009. Intoxicações por plantas em ruminantes e equídeos no Sertão Paraibano. Pesq Vet Bras, 29: 919-924.
- Avalos A, Pérez H. 2009. Metabolismo secundario de plantas Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2:119-145.
- Barrientos L, Vargas J, Segura M, Manríquez R, López T, Fernando A. 2015. Nutritional evaluation of mature seeds of *Enterolobium cyclocarpum* (parota) from diverse ecological zones in western México. Bosque. 36: 95-103.
- Benítez R, Montesinos. 1988. Catálogo de cien especies forestales de Honduras: Distribución, propiedades y usos. Escuela Nacional de Ciencias Forestales, Siguatepeque, Honduras. 216 p.
- Botha C, Penrith M. 2008. Poisonous plants of veterinary and human importance in southern Africa. J Ethnopharmacol. 119: 549-58.
- Bressani R, Jarquin R, Elias LG, Braham JE. 1966. Chemical analysis of conocaste (*Enterolobium cyclocarpum*) kernel flour and its biological assessment in rats and chickens. Turrialba. 16: 330-339.
- Cardozo PW. (2005). Efectos de los extractos de plantas sobre las características de fermentación microbiana ruminal en sistemas *In vitro* e *In vivo*. Tesis Doctoral Universidad Autónoma de Barcelona.
- Carmona J. 2007. Efecto de la utilización de arbóreas y arbustivas forrajeras sobre la dinámica digestiva en bovinos. Rev Lasallista de invest. 4: 1-8.
- Costa F, Yendo ACA, Fleck JD, Gosmann G and Fett-Neto AG. 2011. Immunoadjuvant and Anti-Inflammatory plant saponins: Characteristics and biotechnological approaches towards sustainable production. Mini Reviews in medicinal chemistry. 11: 857-880.
- Cecconelo, G. 2002. Estudio de algunas especies forrajeras leñosas nativas en el bosque seco tropical utilizadas en la dieta de vacunos en el Sur del Estado Aragua. Tesis de grado. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Pág. 67.
- Denogean F, Moreno S, Martin M, Ibarra F. 2008. Impacto económico de las plantas tóxicas para el ganado sobre la producción pecuaria en Sonora. Rev Mex Agronegocios. 22: 538-549.
- De Paula CAA, Coulson-Thomas VJ, Ferreira JG, Maza PK, Suzuki E, Nakahata AM, Oliva MLV. 2012. *Enterolobium contortisiliquum* Trypsin Inhibitor (EcTI), a Plant Proteinase Inhibitor, Decreases *in Vitro* Cell Adhesion and Invasion by Inhibition of Src Protein-Focal Adhesion Kinase (FAK) Signaling Pathways. J Biol Chem, 287: 170–182.
- Díaz GJ, Lozano MC. 2006. Introducción a la Toxicología Veterinaria. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Díaz LE, Franco A, Campello E, De Faria S, Da Silva, E. 1995. Leguminosas forestales: aspectos relacionados con su nutrición y uso en la recuperación de suelos degradados. Bosque 16: 121-127.

Domínguez XA, Franco R, Pugliese O, Escobar N, Jean JA. 1979. Medicinal plants of Mexico. XXXV. Chemical study of guanacastle or parota (*Enterolobium cyclocarpum* JACQ.) a legume, bark and fruit Rev Latinoamer Quim. 10: 46-48.

Frankie GW, Mata A, SW Vinson. 2004. Biodiversity conservation in Costa Rica: Learning the lesson in a seasonal dry forest. Berkley: University of California press pag 341.

Garai S. 2014. Triterpenoid Saponins. Nat Prod Chem Res. 2:6.

(GRIN) Germplasm Resources Information Network. 2010. United States Department of Agriculture Agricultural Research Service, Beltsville Area.

Hamrick JL, Apsit VJ. 2004. Breeding structure of neotropical dryforest tree species in fragmented landscapes. In: Biodiversity Conservation in Costa Rica. Learning the Lessons in a Seasonal Dry Forest (eds Frankie GW, Mata A, Vinson SB), pp. 30–37. University of California Press, Berkeley, CA.

Ivan M, Koenig KM, Teferedegne B, Newbold CJ, Entz T, Rode LM, Ibrahim M. 2004. Effects of the dietary *Enterolobium cyclocarpum* foliage on the population dynamics of rumen ciliate protozoa in sheep. Small Ruminant Res. 52: 81–9.

Jiménez J, Esparza F, Escobar R, Vivar, MA, Garcia FJ. 2011. Extracción y caracterización del almidón de las semillas de *Enterolobium cyclocarpum* CyTA - Journal of Food. 9: 89-95.

Johnson IT, Gee JM, Price K, Curl C, Fenwick GR. 1986. Influence of saponins on gut permeability and active nutrient transport in vitro. J Nutr, 116: 2270-2277.

Knight P, Walter RG. 2002. A Guide to plant poisoning of animals in North America. Teton New Media, Jackson WY.

Lima C, Grossi SM, Kalume D, Roepstorff P, Morhy L, Ricart CM, Sousa M. 1999. Cytosolic and nuclear localization of the cytolytic and insecticidal plant protein enterolobin. J Exp Bot, 50: 1743–1750.

Lozano MC, Doncel B, Moreno CA. 2011. Manual de plantas tóxicas para bovinos. Región Llanos orientales de Colombia: Meta y Casanare. Bogotá, Colombia. Editorial Universidad Nacional de Colombia.

Martínez M, Pacheco R, Flores A, Martínez OA, Echeverría R, González D. 2012. *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb: The biotechnological profile of a tropical tree. Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat. 11: 385 – 399.

Mello GWS, Oliveira DM, Carvalho CJS, Pires LV, Costa FAL, Riet-Correa F, Silva SMM. 2010. Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Norte Piauiense. Pesq. Vet. Bras 30:1-9.

Mendonça F d S, Neto J, Baratella B, Dória R, Freitas S, Pelegrini L, Cruz R, Ferreira E, Colodel E. 2009. Natural and Experimental Poisoning of Cattle by *Enterolobium contortisiliquum* Pods (Fabaceae Mimosoideae) in Central-Western Brazil. Acta Vet Brno. 78: 621-625.

Mimaki Y, Harada H, Sakuma C, Haraguchi M, Yui S, Kudo T, Yamazaki M, Sashida Y. 2003. Enterolobosaponins A and B, Novel Triterpene Bidesmosides from *Enterolobium contortisiliquum* and Evaluation for Their Macrophage-Oriented Cytotoxic Activity Bioorganic & Medicinal. Chem Letters. 13: 623–627.

Mimaki Y, Harada H, Sakuma C, Haraguchi M, Yui S, Kudo T, Yamazaki M, and Sashida Y. 2004. Contortisiliosides A-G: Isolation of seven new triterpene bidesmosides from *Enterolobium*

contortisiliquum and their cytotoxic activity. Helvetica Chimica Acta. 87: 851- 865

Mora CR. 1943. Contribución al estudio de las plantas tóxicas en medicina. Rev Med Vet. 12: 5-38.

Moreno M, Denogean S, Martín R, Ibarra M, Baldenegro C. 2010. Efecto de las plantas tóxicas para el ganado sobre la producción pecuaria en sonora Revista Mexicana de Agronegocios. 14:26.

Moreno O, Villafañe F, García H, Álvarez R, Peña N, Pabon H. 1982. Manual de plantas tóxicas para la ganadería del Magdalena medio. Publicación Instituto Colombiano Agropecuario (ICA).

Naresh R, Sundar S, Shukla J. 2006. Modeling the effect of an intermediate toxic product formed by uptake of a toxicant on plant biomass. Appl Mat Comput. 182: 151–160.

Navas A, Laredo MA, Cuesta A, Anzola H, Leon JC. 1992. Evaluation of *Enterolobium cyclocarpum* as dietary alternative to eliminate protozoa from the rumen. In: Livestock Research for rural development. 4(1) www.cipav.org.co/lrrd/lrrd4/1/orejero.htm.

Negrón G, Parra O, Avila N, Hoet A. 1993. Efecto experimental del fruto del *Enterolobium cyclocarpum* (Kara-Kara) en el ganado bovino. Rev Cient (Maracaibo). 3: 1-6.

Nielsen B. 1978. The economic impact of poisonous plants on the livestock industry in the 17 Western states. J. Range. Manage 31: 325 - 328.

Peña NE. 1982. Contribución a la epidemiología de la “Cromatosis bovina” en algunos municipios del Huila y Tolima (Colombia). Rev Colom Cienc Pec. 4: 51- 63.

Peña J, Caicedo JA, Lozano MC, Doncel B, Moreno C. 2011. Administración experimental del fruto de *Enterolobium cyclocarpum* a cobayos (*Cavia porcellus*) empleados como modelo biológico para evaluar efectos tóxicos. Rev Col Cien Pec. 24: 556.

Piñol MT, Palazón J, Cusidó R. 2000. Introducción al metabolismo secundario. En: Fundamentos de Fisiología vegetal. Eds. Azcón-Bieto J. y M. Talón. Mc Graw-Hill Interamericana. Madrid. Capítulo 17: 261-283.

Pizzani P, Matute I, DeMartino G, Arias Y, Godoy S. 2006. Composición Fitoquímica y Nutricional de Algunos Frutos de Árboles de Interés Forrajero de Los Llanos Centrales de Venezuela. Rev Fac Cienc Vet. 47(2).

Riet-Correa F, Medeiros RMT. 2001. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. Pesq Vet Bras. 21: 38-42.

Salisbury F, Ross. 1992 W. Plant Physiology. Wadsworth Publishing Company. California.

Serratos JC. 2000. Aislamiento y caracterización de proteínas de las semillas maduras de *Enterolobium cyclocarpum* para su aprovechamiento alimenticio. [Tesis Doctoral]. [Colima- Mexico] Universidad de Colima.

Soica C, Peev C, Cirulea R, Dehelean C. 2010. Physico-chemical and toxicological evaluations of betulin and betulinic Acid interactions with hydrophilic cyclodextrins FARMACIA, 58: 5.

Sotelo A, López M, Infante M. 1978. Inhibidores de tripsina y hemaglutininas en algunas leguminosas comestibles. Arch. Invest. Méd. 9: 1.

Sowemimo A, Vebables L, Odejji M, Koekemoer T, Vandeventer M, Hongbing L. 2015. Antiproliferative mechanism of the methanolic extract of *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb.

(Fabaceae). J Ethnopharmacology. 159: 257–261.

Tamayo A. 1996. Los árboles leguminosos y su valor nutritivo en la alimentación animal. En: Memorias del curso pasturas tropicales. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. Corpoica Medellín.

Tanner GJ, Moate PJ and Davis RH. 1995. Proanthocyanidins (condensed tannins) destabilize plant protein foams in a dose dependent manner. Aust J Agric Res. 46:1101-1109.

Threebilkok E, León J, Montaña J, Villafañe F, Morales L. (1976). Algunas plantas tóxicas para la ganadería en la Costa Atlántica. Publicación Instituto Colombiano Agropecuario (ICA)

Tokarnia CH, Dobereiner J, Vargas P. 2002. Poisonous plants affecting livestock in Brazil. Toxicon, 40(12): 1635–1660

Torres JE, Villafañe F. 1976. Toxicología Veterinaria. Ibagué. Publicación Instituto Colombiano Agropecuario (ICA)

Torres JE, Echeverry R, Mejia B, Peña N. 1983. Cromatosis de los bovinos o “vaca morada” en Colombia. Carta Ganadera. 20: 25-30.

Torres JE, Echeverry R, Jaramillo C. 1988. Malezas y plantas tóxicas en ganaderías del departamento del Caquetá. Memorias XVI Congreso Nacional de Medicina Veterinaria. Paipa (Colombia).

Van Soest P. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. Cornell University Press. Ithaca. 476 pp.

Vargas OC. 1999. Identificación de plantas tóxicas en el municipio de Arauca. Memorias Jornada de socialización tecnológica. CORPOICA- PRONATTA. Villavicencio – Meta Junio 3 y 4.

Velásquez H. 1997. Inventario e identificación de plantas tóxicas que afectan la producción animal en la región del Ariari. Jornada de socialización tecnológica. CORPOICA- PRONATTA. Villavicencio – Meta Junio 3 y 4.

Wang Y, Majak W, McAllister T. 2012. Frothy bloat in ruminants: Cause, occurrence, and mitigation strategies. Anim Feed Sci and Tech. 172: 103– 114.

Wang D, Sowemimo A, Gu Y, Gao S, Liu H, Proksch P. 2015. Enterolacaciamine as a potential O-GlcNAcase activator from the leave of *Enterolobium cyclocarpum*. Fitoterapia 105: 89–92.

Zamora S, García J, Bonilla G, Aguilar H, Harvey C, Ibrahim M. 2001. Cómo utilizar los frutos de Guanacaste (*Enterolobium cyclocarpum*), guácimo (*Guazuma ulmifolia*), genízaro (*Pithecellobium saman*) y jícara (*Crescentia alata*) en alimentación animal. Agroforestería Ame. 8:3.

Capítulo 2. Caracterización clínica de la exposición experimental a *E. cyclocarpum* en el ganado bovino en Colombia

Leonardo Roa¹, Benjamín Doncel Díaz²,

¹ Facultad de Ciencias Pecuarias, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (U.D.C.A). Bogotá – Colombia.

² Laboratorio de Patología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá – Colombia

Resumen

El potencial tóxico de los frutos del *E. cyclocarpum* en bovinos de los Llanos Orientales de Colombia fue evaluado mediante la exposición experimental. Se usaron 12 bovinos hembras de 150 kg \pm 10 kg, distribuidos al azar en cuatro grupos de tres animales como sigue: Grupo 1, control (recibieron forraje fresco) y los otros grupos recibieron el fruto en las siguientes dosis: Grupo 2, 10 g/kg PV/dosis única, Grupo 3, 10 g/kg PV diario y el Grupo 4, 20 g/kg PV diario; tiempo de experimentación proyectado 15 días. Se realizó evaluación clínica completa, toma de muestras de sangre y orina antes de iniciar la fase experimental, cuando mostraron signos clínicos y al final del experimento. Los animales expuestos desarrollaron taquipnea, hipertermia leve, pérdida de la condición corporal, diarrea, timpanismo, fotosensibilización y trastornos comportamiento/neurológicos. Los hallazgos de laboratorio clínico mostraron leucocitosis y linfocitosis; aumento del BUN (hasta 5,2 g/dl con la dosis de 10 g/kg PV dosis única, 6,84 g/dl con la exposición a 10 g/kg PV diaria y 14,8 g/dl en el grupo expuesto a 20 g/kg PV diaria; incremento en la AST (hasta 164 UI/l con la exposición a 10 g/kg PV dosis única, hasta 284 UI/l en el grupo 3 (10 g/kg PV diaria) y 280 UI/l en el grupo expuesto a 20 g/kg PV diaria); la creatinina alcanzó valores de 118,6 μ mol/ μ l con la exposición a 10 g/kg PV dosis única, 196 μ mol/ μ l en el grupo 3 y 212 μ mol/ μ l en el grupo 4 y el fibrinógeno incrementó (hasta 1400 mg/dl) durante la fase de instauración de signos clínicos y posterior disminución; todos los parámetros evaluados se mantuvieron entre los rangos normales en el grupo control. Las variaciones en los signos clínicos, las hematológicas y la química sanguínea en los grupos expuestos a *E. cyclocarpum* versus el grupo control son consecuencia de las alteraciones tisulares de tipo inflamatorio, afección hepática y azotemia; tales alteraciones fueron más severas en los animales expuestos a mayor dosis y frecuencia. En conclusión, el *E. cyclocarpum* indujo alteraciones clínicas agudas y subcrónicas, bajo las condiciones agroecológicas de los Llanos Orientales de Colombia.

2.1 Introducción

Las plantas tóxicas generan pérdidas económicas en la ganadería bovina. En varios países del mundo reportan pérdidas económicas relacionadas con muertes súbitas, abortos, otros trastornos asociados con la reproducción, descartes por la disminución en los parámetros productivos y cuadros crónicos en diferentes sistemas orgánicos. En Brasil, las cifras ocasionadas por las plantas tóxicas fueron similares a lo reportado para rabia y botulismo. Entre 800.000 y 1.120.000 cabezas de ganado

mueren en ese país anualmente a causa de intoxicaciones por plantas (Tokarnia et al., 2002). Torres (1983) reportó que el impacto para la ganadería Colombiana podría ascender cerca a los \$ 2000 millones de pesos anualmente.

Al género *Enterolobium* sp., le atribuyen varias alteraciones clínicas, es causa de morbilidad y mortalidad. En América y Brasil en particular, se describe el efecto tóxico de algunas especies de *Enterolobium* sp, como *E. gummiferum* y *E. contortisiliquum*, reportan cuadros digestivos o abortivos (Mello et al., 2010). Mendonça et al. (2009) describieron la intoxicación experimental en bovinos con vainas de *E. contortisiliquum*, utilizaron una dosis de 5, 9 y 12 g/kg y encontraron alteraciones vasculares severas ictericia pero no replicaron la fotosensibilización citada en brotes de campo. *E. cyclocarpum* es una leguminosa endémica o nativa de diferentes regiones de América, es una especie arbórea importante por sus extraordinarias características de altura y diámetro, reconocida en varias regiones geográficas de América y Colombia como potencialmente tóxica para bovinos (Lozano et al., 2011).

Las saponinas son glucósidos de esteroides o triterpenoides; Johnson et al. (1986) mencionan a las saponinas triterpénicas contenidas en *E. cyclocarpum* como las responsables de hemólisis, aumento de la permeabilidad vascular y la inducción de apoptosis bajo condiciones *in vitro*. Martínez et al. (2012), Soica et al. (2010) y Sotelo et al. (1978) relacionan otros metabolitos secundarios como los glucósidos cianogénicos, el ácido betulínico y el ácido machaerínico como activadores de las caspasas con efectos sobre el metabolismo de azúcares y hormonas. De otra parte, Negrón et al. (1993) administraron harina de *E. cyclocarpum* a bovinos en la región del Zulia – Venezuela y cuando incluyeron el 75% de la harina citada en la dieta los animales sufrieron problemas dermatológicos y algunas alteraciones hematológicas. En ningún estudio indagaron de manera sistemática el efecto de esta especie vegetal sobre los bovinos.

El propósito de esta investigación fue evaluar el efecto clínico, hematológico y bioquímico de la exposición a diferentes dosis de *E. cyclocarpum* en bovinos de los Llanos Orientales de Colombia.

Correspondencia al autor. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (U.D.C.A),

Facultad de Ciencias Pecuarias. Calle 222 No. 55-37. Bogotá – Colombia. Sur América

Dirección electrónica: leroa@udca.edu.co

2.2 Materiales y métodos

Colección del material vegetal

Se recolectaron frutos (vainas) frescos de *E. cyclocarpum* (Fig. 2-1), en las fincas ganaderas con reportes de intoxicaciones por la planta ubicadas en los Llanos Orientales de Colombia (Lozano et al., 2011) durante el periodo de abril a mayo.



Figura 2-1. *E. cyclocarpum*, frutos maduros. Las vainas de color marrón de aproximadamente 15 cm de diámetro. La semilla es elipsoide de aproximadamente 2 cm de longitud de coloración marrón con centro negro.

Animales experimentales

Se emplearon 12 bovinos hembras, cebú comercial en buen estado de salud, homogenizadas por genética: (cruce de cebú puro) por (cebú comercial y *Bos taurus*); edad 1 año \pm 2 m; peso 150 \pm 10 kg. Todos los animales fueron vermifugados previamente con ivermectina, dosis 200 μ /kg PV por vía subcutánea. Los bovinos fueron pesados (peso inicial) e identificados. Los datos fueron registrados en historias clínicas individuales actualizadas durante toda la fase experimental; los bovinos fueron semi-estabulados en la zona rural del departamento de Meta, alimentados bajo la modalidad de pastoreo en sabana natural (*T. vestitus*), sal mineralizada del 8 % de fósforo, concentrado 1 kg/día por

animal y agua a voluntad por 15 días (periodo de adaptación).

Grupos experimentales

Los animales fueron distribuidos al azar en cuatro grupos experimentales de tres individuos cada uno. Al grupo control (grupo 1) no se le administró el fruto. A los animales del grupo 2 se les administró una dosis de 10 g/kg PV; al grupo 3, 10 g/kg PV dosis diaria y al grupo 4, 20 g/kg PV dosis diaria (Tabla 2-1). El periodo experimental planteado fue de 15 días, se usaron las instalaciones del Hato Casona, ubicado en la vereda Brisas del Ovejas del Municipio Mapiripán, Meta; el Hato Casona está localizado en las siguientes coordenadas tomadas con GPS: Longitud: 2°50'49.3" N, Latitud: 72°23'01.3" W, altura: 214 m s. n. m y T° 26,5°C y humedad relativa entre 75-80 % en invierno. Las vainas de *E. cyclocarpum*, colectadas en fincas de Llanos Orientales de Colombia (departamentos: Meta y Casanare); fueron pesadas y organizadas por dosis de acuerdo con cada tratamiento. Se administraron completas para consumo voluntario. Las raciones fueron suministradas en la dosis diaria planteada en la mañana, antes del acceso al forraje tradicional y concentrado.

Tabla 2.1. Grupos experimentales. Intoxicación experimental con frutos *E. cyclocarpum* en ganado bovino en los Llanos Orientales de Colombia.

| Grupo | No. Bovinos | Dosis vaina fresca (Tratamiento) | Días experimentales proyectados |
|-------|-------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| 1 | 3 | Control | 15 |
| 2 | 3 | 10 g/kg PV dosis única | 15 |
| 3 | 3 | 10 g/kg PV dosis diaria | 15 |
| 4 | 3 | 20 g/kg PV dosis diaria | 15 |

Examen clínico y toma de muestras para Laboratorio Clínico

Todos los procedimientos contaron con el visto bueno del comité de Bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia. A los animales les realizaron examen clínico completo siguiendo los procedimientos del problema orientado al diagnóstico mediante evaluación de constantes fisiológicas, inspección, palpación, percusión y auscultación. El examen clínico completo, la toma de

muestras para el laboratorio se hizo 7 días antes de iniciar la fase experimental (tiempo 0), al inicio de signos clínicos y al final la fase experimental esta última definida por el curso del cuadro clínico de acuerdo con las consideraciones de bienestar animal (Olfert et al., 1993). Los datos del examen clínico y los resultados de los exámenes fueron consignados en las historias clínicas individuales (Smith, 2014).

La toma de muestras de sangre (7 ml) se realizó en la vena caudal con vacutainer se depositó en tubos con anticoagulante (EDTA) para hemograma completo y sin anticoagulante para medición de aspartato amino transferasa (AST), nitrógeno ureico sanguíneo (BUN) y creatinina (CREA). Adicionalmente, se tomó muestra de orina (10 ml), para urianálisis. Los análisis se hicieron en el equipo de hematología automatizado Nihon Kohden ® y se empleó la metodología de química seca de Jhonson y Jhonson Vitros DT60II 14 ®. Las muestras se procesaron en el Laboratorio Clínico de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia.

Teniendo en cuenta los parámetros establecidos para la finalización del periodo experimental (Tabla 2-2) se realizó el sacrificio de las unidades experimentales siguiendo los lineamientos éticos recomendados para la especie mediante la administración de pentobarbital sódico, a dosis de 60 mg/kg intravenoso (ANZCCART, 2001; AVMA Guidelines on Euthanasia, 2007; Practical euthanasia of cattle, 2013).

Tabla 2-2. Parámetros definidos para la culminación del periodo experimental

| Signo | Grado | | | Determinación |
|-----------------------------------|-------|----------|--------|--|
| | Leve | Moderado | Severo | |
| Manifestaciones de dolor y fiebre | X | | | Manejo médico |
| | | X | | Manejo médico cuando la eutanasia no se puede hacer inmediatamente |
| | | X | | Eutanasia |
| Diarrea | X | | | Eutanasia |
| Desarrollo de fotosensibilización | X | | | Eutanasia |
| Postración | | | | Eutanasia |
| Alteraciones de la conciencia | | X | | Eutanasia |

Registro de datos y análisis estadístico

Los datos fueron tabulados en tablas de Excel®, posteriormente se realizó un análisis descriptivo de las variables clínicas y para mostrar los datos se utilizaron histogramas de frecuencia. A las variables cuantitativas como cuadro hemático, enzimas de función hepática y renal; se hizo un diseño completamente al azar, se implementó un análisis de varianza y se establecieron las comparaciones entre tratamientos y dentro de tratamientos con la prueba de Tukey (HSD). Las diferencias estadísticas significativas fueron consideradas cuando $p < 0,05$ y altamente significativas $p < 0,01$. Se empleó el lenguaje de programación R (R Core Team; 2013).

2.3 Resultados

Manifestaciones clínicas

La tabla 2-3 resume la información relacionada con el número de días para el inicio de signos clínicos, número de dosis administradas y los sistemas comprometidos en cada uno de los grupos experimentales. El inicio de los signos digestivos ocurrió a partir del segundo día de exposición para los grupos expuestos 2 y 3, al primer día para el grupo 4 y los animales del grupo control (grupo 1) no desarrollaron ningún signo clínico.

Tabla 2-3. Alteraciones clínicas en bovinos expuestos a frutos de *E. cyclocarpum*. D: Digestivo; N: Neurológico; T: Tegumentario.

| Grupo | Tratamiento | Días inicio de signos clínicos | Número total de dosis administradas | Finalización fase experimental (días) | Sistemas afectados | | | Peso (kg) | | |
|-------|----------------------|--------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|--------------------|---|---|-----------|-------|-----------------|
| | | | | | D | N | T | Inicial | Final | Diferencia peso |
| 1 | Control | - | 0 | 15 | | | | 155 | 164 | +9 |
| 2 | 10 g/kg dosis única | 2 | 1 | 15 | X | X | | 156 | 156 | 0 |
| 3 | 10 g/kg dosis diaria | 2 | 6 | 8 | X | X | X | 159 | 158 | -1 |
| 4 | 20 g/kg dosis diaria | 1 | 3 | 4 | X | X | X | 158 | 160 | +2 |

Los animales expuestos a *E. cyclocarpum* desarrollaron signos nerviosos/comportamiento como apatía y aislamiento del grupo, seguido por la anorexia y depresión durante las 24 h posteriores a la exposición; sin embargo, a partir del segundo día de la fase experimental, entre los grupos expuestos hubo signos sistémicos (digestivos: ictericia, dilatación abdominal (timpanismo), anorexia y diarrea; neurológicos: apatía, temores musculares, postración y opistótonos; dermatológicos: eritema, hiperqueratosis y ulceración) de diversos grados de severidad. Los animales de la dosis repetida alta (grupo 4), mostraron cuadro agudo digestivo y neurológico. Los animales de la dosis baja repetida (grupo 3) desarrollaron amplia gama de signos similares a los arriba citados, incorporando lesiones dermatológicas de grado moderado a severo. La exposición a la dosis única de 10 g/kg,

generó alteraciones temporales de timpanismo de tipo espumoso, seguido por alteraciones leves de tipo neurológico: tremores, depresión y anorexia de grado leve (Fig. 2-2).

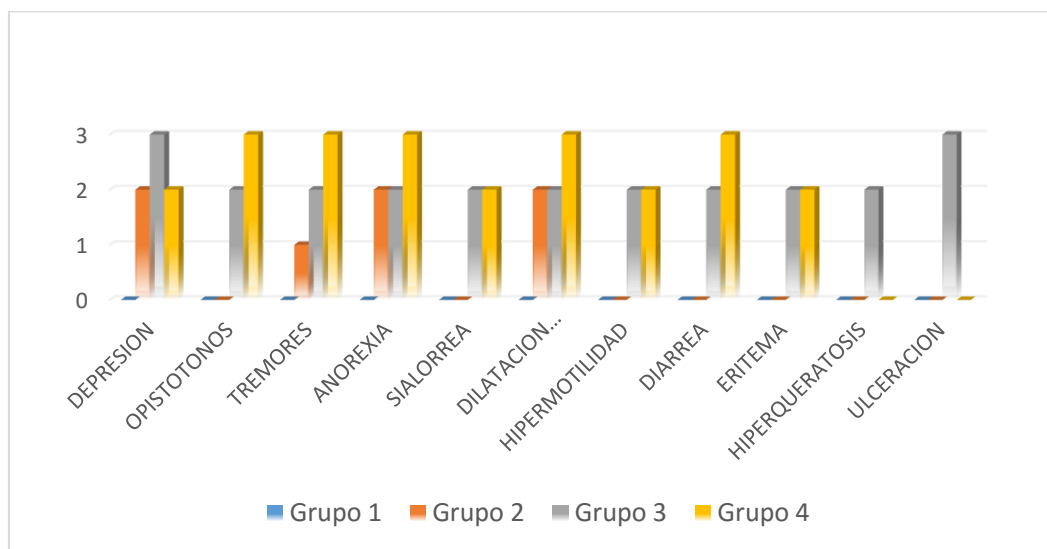


Figura 2-2. Principales hallazgos clínicos y grado de severidad en los en bovinos expuestos a *E. cyclocarpum*. 0: sin alteraciones; 1: leve; 2: moderada; 3: severa.

En los animales del grupo 2 (dosis única) hubo elevación moderada de la temperatura (promedio de 39,5°C, con pico de 40,8°C en el segundo día de la fase experimental), comparado con el grupo control. En cuanto a los animales de los grupos 3 y 4 se observó aumento leve de temperatura en comparación con el grupo control, seguido por hipotermia 36,9 °C. Todos los animales experimentales desarrollaron taquipnea (45-50 rpm), especialmente en los grupos con mayor exposición a *E. cyclocarpum*, excepto el grupo control.

Todos los animales expuestos tuvieron cuadros de anorexia moderada, sialorrea (Fig. 2-3A) y diversos grados de dilatación abdominal cuya severidad varió de manera proporcional con el aumento de la dosis y la frecuencia. En los animales del grupo 3 hubo hipermotilidad intestinal y diarrea moderada y severa al final del experimento (Fig. 2-3B). Los animales del grupo 4 desarrollaron hipermotilidad y diarrea severa. El grupo control no desarrolló ningún tipo de sintomatología.



Figura 2-3. Hallazgos clínicos en bovinos expuestos a *E. cyclocarpum*. A: Sialorrea severa, grupo 4. B: Diarrea, grupo 3.

En el sistema nervioso la depresión determinada por mayor tiempo de estación en el potrero, aislamiento del grupo, temores musculares en la región del muslo y tabla de cuello, fueron los signos en los animales expuestos, especialmente en los grupos de mayor dosis y frecuencia (Fig. 2-4A). En el grupo 2, los signos neurológicos fueron transitorios durante los dos primeros días posteriores a la exposición. En los grupos 3 y 4 se evidenció opistótonos y depresión severa, posterior a la postración de los animales (Fig. 2-4B). Los animales del grupo control el comportamiento y consumo de alimento fue normal.



Figura 2-4. Alteraciones neurológicas en bovinos expuestos a *E. cyclocarpum*. A: Depresión severa y postración, grupo 3. B: Decúbito y opistótonos, grupo 3.

Las lesiones dermatológicas fueron: zonas de eritema, hiperqueratosis, descamación y

ulceración, específicamente en la zona facial, orejas, pecho, muslo y cuello tales lesiones fueron más severas en los animales del grupo 3; en el grupo 4 hubo eritema en grado leve a moderado (Fig. 2-5 A y B). Los individuos del grupo 1 y 2 no desarrollaron lesiones en el sistema tegumentario.

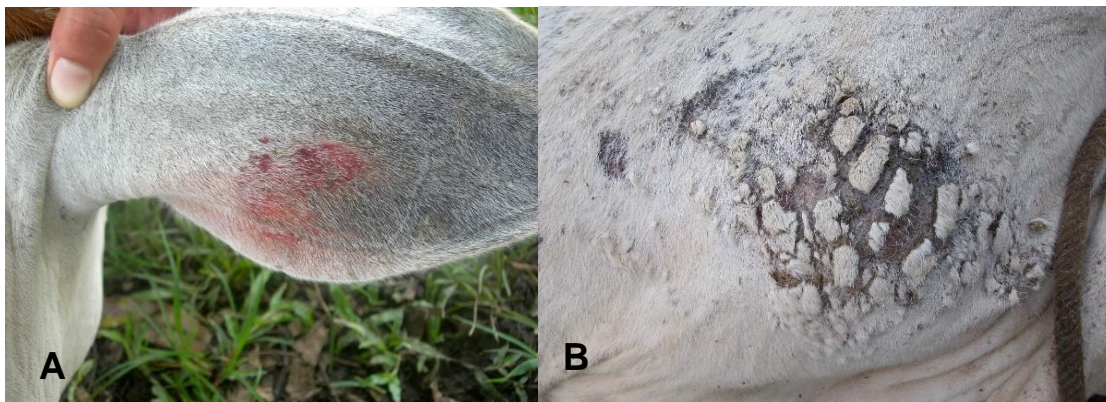


Figura 2-5. Lesiones dermatológicas en bovinos expuestos a *E. cyclocarpum*. A: Pabellón auricular, eritema de grado moderado, grupo 4. B: Hiperqueratosis y ulceración de grado moderado, grupo 3.

Hallazgos de patología clínica

Se realizaron tres muestreos (sangre y orina) a los grupos experimentales y fueron definidos como sigue: antes de la fase experimental, inicio de los signos clínicos y la finalización del experimento. La tabla 2-4 muestra los principales hallazgos del hemograma en los grupos experimentales. Las variaciones del hemograma fueron el valor relativo de los leucocitos, específicamente en los grupos expuestos, siendo más discreto en el grupo 2 y marcadas en los grupos 3 y 4; incremento en el porcentaje de linfocitos (hasta 84 y 88% en el grupo 4) y disminución en el recuento de los neutrófilos (hasta 10 y 15%) en el mismo grupo. Hubo aumento del hematocrito en los grupos expuestos a *E. cyclocarpum* y concentración de proteínas plasmáticas totales leve. La evaluación del fibrinógeno sérico mostró incremento considerable entre el segundo y cuarto día, alcanzando valores desde 800 hasta los 1400 mg/dl; sin embargo, los valores disminuyeron entre 800 y 1000

mg/dl en el último muestreo de los grupos expuestos.

Tabla 2-4. Principales hallazgos del hemograma en bovinos expuestos a *E. cyclocarpum*. Grupo 1, Control. Grupo 2, 10 g/kg dosis única. Grupo 3, 10 g/kg diaria. Grupo 4, 20 g/kg diaria. PPT: Proteínas plasmáticas totales. *: Diferencias significativas $p < 0,05$. **: Diferencias altamente significativas $p < 0,01$.

| MUESTREOS | Parámetro evaluado y valor de referencia | GRUPOS | | | |
|---------------------------------|--|--------|---------------|---------------|---------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Tiempo 0 | Hematocrito % 24-46 % | 33 | 33 | 34 | 33 |
| | PPT 7-8,5 g/dl | 7 | 6,8 | 7 | 7.0 |
| | Fibrinógeno 200-700 mg/dl | 300 | 400 | 500 | 450 |
| | Eritrocitos 5-10/10 ⁶ /μl | 7,5 | 7,8 | 7,4 | 7,5 |
| | Hemoglobina 8-15 g/dl | 10,3 | 11,1 | 10,5 | 11,4 |
| | Leucocitos 8,5-13 10x ³ /μl | 11,7 | 8,0 | 11,4 | 11,4 |
| | Neutrófilos % 21,3-41,5 % | 33 | 33 | 33 | 34 |
| | Linfocitos % 49,6-71,4 % | 62 | 61 | 65 | 63 |
| Inicio de signos | Hematocrito % 24-46 % | 36 | 34 | 41 | <u>52*</u> |
| | Fibrinógeno 200-700 mg/dl | 600 | <u>1100**</u> | <u>850</u> | <u>1300**</u> |
| | Leucocitos 8,5-13 10x ³ /μl | 12,4 | 12,7 | 7,5 | 10,8 |
| | Neutrófilos % 21,3-41,5 % | 33 | 38 | 28 | <u>10</u> |
| | Linfocitos % 49,6-71,4 % | 65 | 61 | 71 | <u>88**</u> |
| Finalización experimento | Hematocrito % 24-46 % | 38 | 37 | 44 | <u>50**</u> |
| | Fibrinógeno 200-700 mg/dl | 500 | <u>850</u> | <u>800*</u> | <u>1000**</u> |
| | Leucocitos 8,5-13 10x ³ /μl | 12 | <u>16**</u> | <u>15,3**</u> | <u>13,2</u> |
| | Neutrófilos % 21,3-41,5 % | 35 | 28 | 25 | <u>15</u> |
| | Linfocitos % 49,6-71,4 % | 63 | 70 | 71 | <u>84**</u> |

El primer muestreo no mostró diferencias estadísticas entre los grupos experimentales (tratamientos). En el análisis estadístico del segundo muestreo hubo diferencias altamente significativas en los valores de fibrinógeno entre los grupos expuestos a *E. cyclocarpum* y el grupo control. El recuento de neutrófilos fue menor en los grupos (3 y 4) y mostró diferencias altamente significativas en comparación con los grupos (1 y 2). En el último muestreo hubo diferencias significativas en el recuento total de leucocitos entre los grupos expuestos y el grupo control. En relación con el fibrinógeno, hubo diferencias significativas

de los grupos 2, 3 y 4 versus (vs) el grupo control. En ningún muestreo se encontraron diferencias entre los grupos experimentales en los valores de monocitos, basófilos y eosinófilos.

Química sérica

Se realizó evaluación de BUN, AST y CREA en los muestreos planteados: días 0, inicio de signos y finalización del experimento.

Los niveles del BUN mostraron diferencias altamente significativas entre los animales de los grupos 3 y 4 vs el grupo control, en la fase de inicio de signos, según el rango normal para la especie (0,7 – 2,46 g/dl), la figura 2-6 ilustra las variaciones. El grupo control estuvo dentro del rango normal, en los animales expuestos los valores aumentaron y alcanzaron valores de 2,9 g/dl en el grupo 2; de 4,6 g/dl en el grupo 3 y 14,9 g/dl en el grupo 4. Los valores del último muestreo mostraron diferencias altamente significativas entre los grupos expuestos y el grupo control, alcanzando los 4,8 g/dl en el grupo 2; los 5,8 g/dl en el grupo 3 y los 13,5 g/dl en el grupo 4.

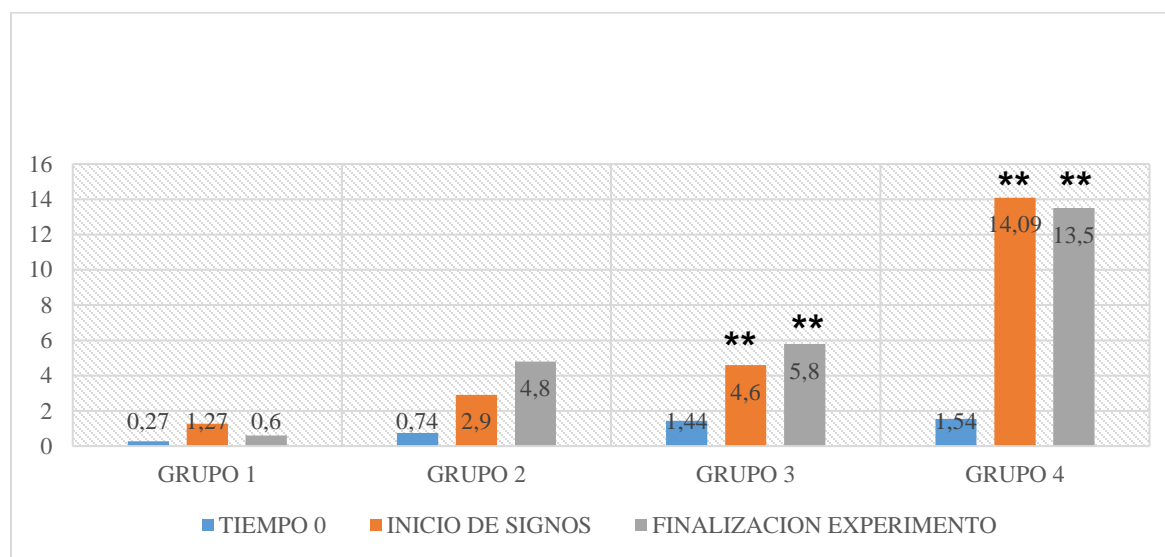


Figura 2-6. Variaciones del BUN en bovinos expuestos a *E. cyclocarpum*. **: Diferencias altamente significativas $p < 0,01$.

La AST como indicador de afección del tejido hepático tuvo comportamiento variable para los grupos de los animales expuestos a *E. cyclocarpum* en comparación con el grupo control, el rango definido para la especie (48-100 UI/l) (Fig. 2-7); en el primer muestreo,

todos los animales tuvieron valores entre el rango normal (60,3 - 72,3 UI/l). Al inicio de los signos clínicos hubo aumento de la enzima AST. En el caso del grupo 4 que mostro manifestaciones de intoxicación aguda, los valores promedios aumentaron levemente hasta 96 UI/l; en el caso de los animales de los grupos 2 y 3 que mostraron signos a partir del segundo día, hubo elevación moderada alcanzaron 148,6 y 159,3 UI/l, respectivamente y mostraron diferencias significativas en comparación con el grupo control. En el muestreo final se encontró disminución en los valores de AST, el segundo grupo experimental retornó a los rangos definidos para la especie como normales; sin embargo, las diferencias estadísticas de los grupos 3 y 4 fueron significativas en comparación con los grupos 1 y 2; valores del doble y hasta casi tres veces el valor máximo normal reportado para la especie, oscilaron entre los 228 y 232 UI/l.

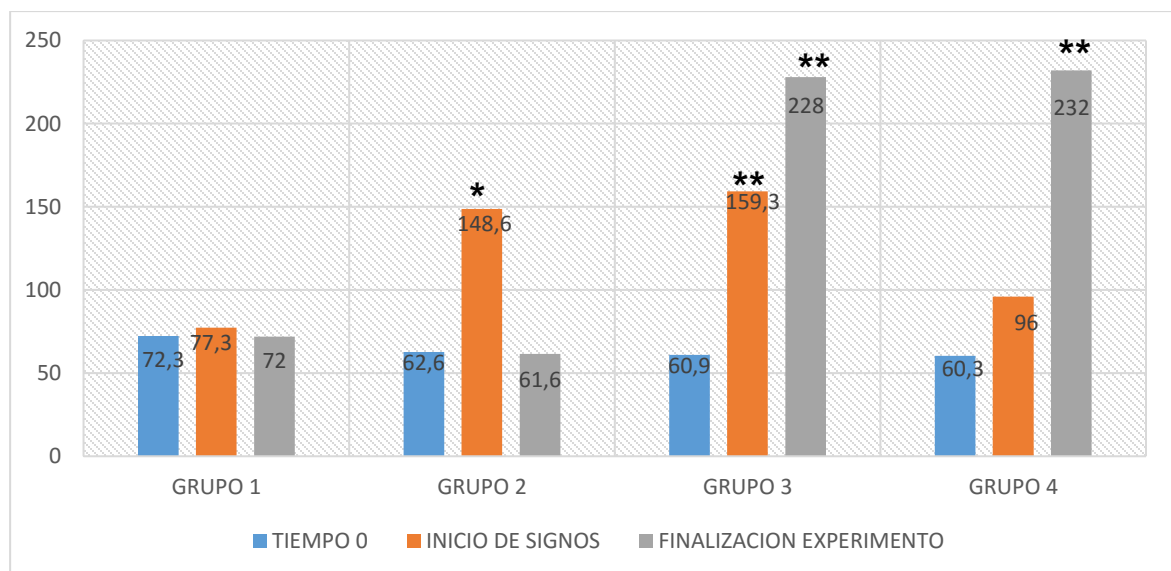


Figura 2-7. Variación en los niveles de AST en bovinos expuestos a *E. cyclocarpum*. *: Diferencias significativas $p < 0,05$. **: Diferencias altamente significativas $p < 0,01$.

La evaluación indirecta de la función renal a través de los valores de la CREA sérica mostró aumento en los grupos expuestos, según el rango normal para la especie (44-140 $\mu\text{mol/l}$) (Fig. 2-8); hubo incremento leve en el grupo 2 durante el segundo y tercer muestreo, alcanzando un máximo de 114,6 $\mu\text{mol/l}$. Para los grupos 3 y 4 las elevaciones fueron mayores en comparación con el grupo control desde el segundo muestreo y alcanzó en el grupo 3 el valor máximo de 196 $\mu\text{mol/l}$ y el grupo 4 de 212 $\mu\text{mol/l}$. El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre los grupos de animales de los grupos 3 y 4 vs los

grupos 2 y 1.

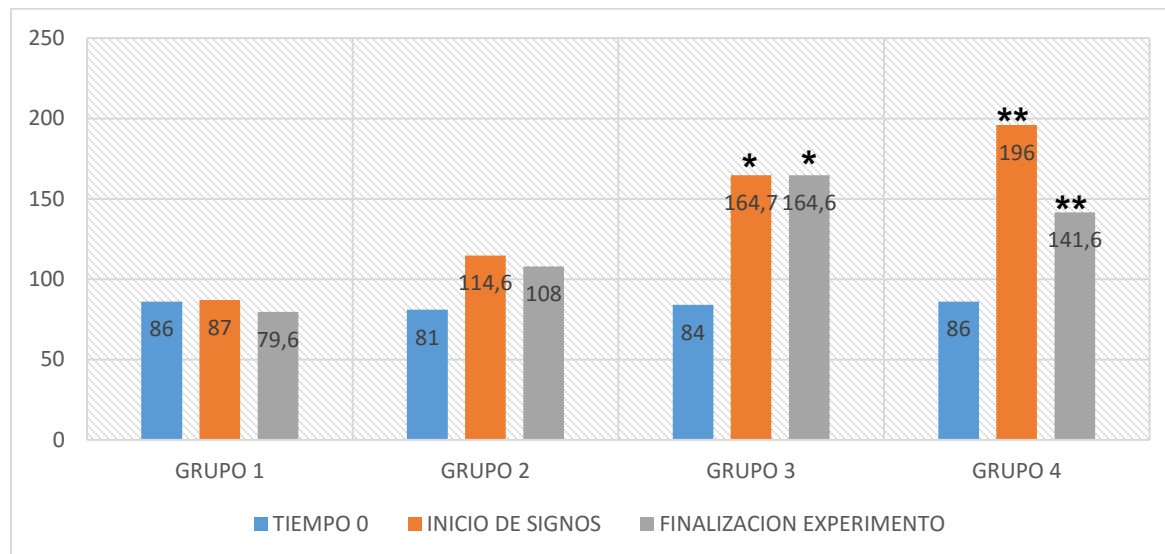


Figura 2-8. Variación en los niveles de Creatinina en bovinos expuestos a *E. cyclocarpum*. *: Diferencias significativas $p < 0,05$. **: Diferencias altamente significativas $p < 0,01$.

Uroanálisis

Las muestras para la realización de los uroanálisis se tomaron en los tiempos definidos para cada grupo; sin embargo, no se encontraron diferencias entre los grupos experimentales y el grupo control.

2.4 Discusión

El periodo experimental en los grupos 3 y 4 fue más corto debido a la evolución de los signos clínicos se relacionó con la dosis experimental y la frecuencia. Todos los animales expuestos a frutos de *E. cyclocarpum* desarrollaron signos clínicos con diferentes grados de severidad del sistema digestivo, neurológico y tegumentario. Los animales del grupo 4 recibieron la dosis más alta y mostraron signos clínicos agudos. Al comparar los resultados de este estudio con lo reportado por Mendonça et al. (2009) quienes expusieron experimentalmente a tres bovinos con *E. cortortisiliquum*, (dosis única de 5, 9 y 12 g/kg); el actual trabajo mostró un espectro de signos más amplio o mayor grado de severidad como el timpanismo espumoso, fotosensibilización y los signos neurológicos. Tokarnia et al. (1999) intoxicaron experimentalmente a bovinos con dosis variables únicas y repetidas

entre 1,25 a 20 g/kg de *E. timbouva* y *E. contortisiliquum* (plantas obtenidas de diferentes zonas de Brasil) lograron replicar con *E. contortisiliquum* cuadros de diarrea, un animal con una dosis de 10 g/kg mostró timpanismo leve heces líquidas y murió; en ese trabajo no replicaron fotosensibilización. Los resultados de los hallazgos clínicos permiten proponer que el *E. cyclocarpum* desarrolla timpanismo temporal con dosis únicas de 10 g/kg y dosis de 10 y 20 g/kg repetidas el timpanismo fue severo y el curso rápido, así como fotosensibilización con la exposición a dosis bajas pero repetidas (grupo 3) bajo las condiciones agroecológicas de los Llanos Orientales de Colombia.

El timpanismo podría relacionarse con varios factores entre ellos: el alto contenido de proteínas, la alta digestibilidad de las vainas de *E. cyclocarpum* y el alto contenido de saponinas que favorecen la producción de espumas (Hess et al., 2003; Wang et al., 2012). Las variaciones en la frecuencia respiratoria se relacionan con fenómenos de hipoxia tisular explicada por el timpanismo y las posibles alteraciones microcirculatorias en los grupos expuestos; el efecto mecánico de la dilatación ruminal dificulta el intercambio gaseoso y genera el aumento compensatorio en la frecuencia respiratoria (Wang et al., 2012).

La depresión, sialorrea y temores musculares fueron hallazgos clínicos del sistema nervioso de los animales expuestos, especialmente en aquellos que recibieron mayor dosis de exposición a *E. cyclocarpum*. Los temores, definidos como las contracciones de músculos antagonistas, fueron manifiestos en los miembros posteriores en la región del muslo y la tabla del cuello. Una de las primeras hipótesis sería la posible lesión axonal periférica de las neuronas motoras pero no se encontró lesión en nervios y la segunda, el desequilibrio electrolítico por alteraciones de la membrana celular que favorecerían sobre la placa neuromuscular el aumento de receptores de acetilcolina en el sarcolema (Borges and Ferraz, 2006); es posible que el desequilibrio electrolítico juegue un papel en los signos citados.

Al evaluar la condición corporal y el peso, en el grupo de 20 g/kg diaria (grupo 4) hubo pérdida considerable de la condición corporal en comparación con el grupo control pero no hubo disminución en el peso, este hallazgo se relacionó con el acúmulo abundante de fluido en el saco ruminal. Sobre estas dos variables, Johnson et al. (1986) demostraron *in vitro* que a mayor exposición a saponinas, la actividad de absorción

(transporte activo) se afecta negativamente en el yeyuno por alteración de la membrana celular, situación que explica el aumento en la permeabilidad de los enterocitos, el acúmulo de fluido, el desarrollo de diarrea, la deshidratación y la pérdida de condición corporal; es posible que un fenómeno similar ocurra en la mucosa del rumen adicional al efecto irritativo de las saponinas y otros ácidos en la mucosa ruminal.

Los cambios macroscópicos en la piel de los animales que tuvieron mayor tiempo de exposición dosis repetidas (10 y 20 g/kg diaria PV) fueron alteraciones propias de fotosensibilización de origen hepático. Las alteraciones dermatológicas fueron: eritema, ulceración, hiperqueratosis, descamación en la zona facial, auricular, pecho, cuello, y muslos; tales hallazgos son concordantes descrito para fotosensibilización (Radostits et al., 2007). Negron et al. (1993) reportaron fotosensibilización en bovinos tras la inclusión del 75% de harina del fruto de *E. cyclocarpum* en la dieta. Las alteraciones dermatológicas son consecuencia de lesión hepática y el acumulo de filoeritrina. Las saponinas propias de las diferentes especies de *Enterolobium* podrían inducir lesión hepática (Francis et al., 2002); sin embargo, se debe considerar el posible efecto sobre la membrana celular del hepatocito y otros grupos celulares como las células endoteliales.

En los animales expuestos a *E. cyclocarpum*, hubo aumento en la enzima AST, comparado con el grupo 1. Es importante resaltar que la AST es un indicador de lesión hepática, musculo, encéfalo, riñón y células sanguíneas (Villa et al., 1999). En los grupos 3 y 4 la lesión hepática se confirmó por la elevación de la AST severa junto con la ictericia, similar a lo reportado por Mendonça et al. (2009). La actividad plasmática de la AST tiene la posibilidad de un aumento rápido en los valores como respuesta al daño hepático y retorna a valores fisiológicos cuando se elimina el estímulo lesivo (Noro et al., 2013), situación evidenciada en el grupo 2 que al retirar el estímulo hubo retorno a los valores fisiológicos. Este hallazgo nos permite concluir el efecto hepatotóxico del *E. cyclocarpum* y la evaluación de la enzima sería un buen indicador, durante el curso agudo de la intoxicación por *E. cyclocarpum*.

La exposición a *E. cyclocarpum* aumentó los valores de metabolitos que definen el funcionamiento renal como el BUN y la CREA; los anteriores junto con los hallazgos clínicos señalan el origen renal (grupos 3 y 4). En este trabajo hubo elevación del BUN

directamente proporcional a la dosis y frecuencia de exposición; la elevación se mantuvo en el tiempo en los animales del grupo 2; por esta razón podemos concluir que tanto las dosis bajas (10 g/kg PV) como la continua exposición pueden desencadenar lesión renal. En ambas situaciones es fundamental considerar el papel que jugaría la anorexia y la depresión sobre la hidratación, además del posible efecto del fruto sobre el parénquima renal y el endotelio.

Los animales expuestos tuvieron elevaciones del fibrinógeno, especialmente durante la primera evaluación post exposición, alcanzando los 1400 mg/dl en el grupo 4. Este resultado del fibrinógeno muestra el aumento en la síntesis durante la fase aguda de la intoxicación, los grupos expuestos en pocas horas alcanzaron valores que oscilaron entre los 800 y 1400 mg/dl, datos que explicarían la afección sistémica corroborada con los hallazgos clínicos. La utilidad del fibrinógeno como indicador de lesión tisular aguda por esta planta se confirma al alcanzar valores de dos a tres veces en los animales expuestos a *E. cyclocarpum* vs el grupo control, los resultados están de acuerdo con lo reportado para proteínas de la fase aguda de la inflamación con mayor sensibilidad en el ganado bovino (Gruys et al., 2005). Las proteínas de fase aguda incrementan la concentración plasmática después de diversos estímulos como procesos infecciosos y lesiones tisulares de diversos orígenes (Jones and Allison, 2007).

En conclusión, Los resultados de los exámenes paraclínicos fueron concordantes con el examen clínico, demostraron afección hepática y renal. La exposición de bovinos al fruto de *E. cyclocarpum* indujo cuadro toxico agudo severo (grupo 4) y subcrónico moderado (grupos 2 y 3) afectó el digestivo, el sistema nervioso y el tegumentario bajo las condiciones agroecológicas de los Llanos Orientales de Colombia.

2.5 Referencias

ANZCCART 2001 Euthanasia of Animals Used for Scientific Purposes. (en línea) 2001 (fecha de acceso 8 de noviembre de 2011). URL disponible en: <http://www.adelaide.edu.au/ANZCCART/publications/Euthanasia.pdf>

AVMA Guidelines on Euthanasia (en línea) 2007 (fecha de acceso 6 de noviembre de 2011). URL disponible en: www.avma.org/issues/animal.../euthanasia.pdf.

- Borges V, Ferraz HB. 2006 Tremors. Rev Neurocienc; 14(1):043-047.
- Francis G, Kerem Z, Makkar HP, Becker K. 2002. The biological action of saponins in animal systems: a review. Br J Nutr. 88: 587-605.
- Gruys E, Toussaint M, Niewold T, Koopmans S. 2005. Acute phase reaction and acute phase proteins. J Zhejiang Univ Sci B. 6: 1045–1056.
- Hess HD, Kreuzer M, Díaz TE, Lascano CE, Carulla JE, Soliva CR, Machmüller A. 2003. Saponin rich tropical fruits affect fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. Anim Feed Sci and Tech. 109: 79–9.
- Johnson IT, Gee JM, Price K, Curl C, Fenwick GR. 1986. Influence of saponins on gut permeability and active nutrient transport in vitro. J Nutr, 116: 2270-2277.
- Jones ML, Allison R. 2007. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. Vet Clin North Am, Vol 23 Issue 3 Pages 377-402.
- Lozano MC, Doncel B, Moreno CA. 2011. Manual de plantas tóxicas para bovinos. Región Llanos orientales de Colombia: Meta y Casanare. Bogotá, Colombia. Editorial Universidad Nacional de Colombia.
- Martínez M, Pacheco R, Flores A, Martínez OA, Echeverría R, González D. 2012. *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb: The biotechnological profile of a tropical tree. Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat, 11: 385 – 399.
- Mello GWS, Oliveira DM, Carvalho CJS, Pires LV, Costa FAL, Riet-Correa F, Silva, SMM. 2010. Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Norte Piauiense Pesq Vet. Bras 30:1-9.
- Mendonça F d S, Evencio J, Baratel L, Doria R, Freitas S, Pelegrini F, Cruz R, Ferreira E, Colodel E. 2009. Natural and Experimental Poisoning of Cattle by *Enterolobium contortisiliquum* Pods (Fabaceae Mimosoideae) in Central-Western Brazil. Acta vet. Brno. 78: 621-625.
- Negrón G, Parra O, Avila N, Hoet A. 1993. Efecto experimental del fruto del *Enterolobium cyclocarpum* (Kara-Kara) en el ganado bovino. Rev Cient (Maracaibo). 3: 1-6.
- Noro M, Cid P, Wagemann C, Arnés V, Wittwer F. 2013. Valoración diagnóstica de enzimas hepáticas en perfiles bioquímicos sanguíneos de vacas lecheras. Rev MVZ Cordoba. 18(2).
- Olfert, E, Cross B, McWilliam A. 1993. Guide to the care and use of experimental animals. Canadian Council of animal care.
- Practical Euthanasia of cattle. 2013. American association of bovine practitioners http://www.aabp.org/resources/AABP_Guidelines/Practical_Euthanasia_of_Cattle-September_2013.pdf
- Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. 2007. Veterinary Medicine - A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. 10th Ed. Saunders.
- R core team 2013. R: a Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for

Statistical computing, Viena. Available at: www.R-project.org/.

Smith BP. 2014. Large animal internal medicine. Ed. 5. St. Louis, Missouri, USA. Mosby Year Book, Inc.

Soica C, Peevm C, Cirulea R, Dehelean C. 2010. Physico-chemical and toxicological evaluations of betulin and betulinic Acid interactions with hydrophilic cyclodextrins. *Farmacia*, 58:5.

Sotelo A, López M, Infante M. 1978. Inhibidores de tripsina y hemaglutininas en algunas leguminosas comestibles. *Arch. Invest. Méd*, 9: 1.

Tokarnia C, Döbereiner J, Dutra I, Brito L, Chagas B, França T, Brust L. 1999. Experimentos em bovinos com as favas de *Enterolobium contortisiliquum* e *E. timbouva* para verificar propriedades fotossensibilizantes e/ou abortivas *Pesq Vet Bras*, 19: 39-45.

Tokarnia CH, Dobereiner J, Vargas, P. 2002. Poisonous plants affecting livestock in Brazil. *Toxicon*. 40: 1635–1660.

Torres JE. 1983. Intoxicación de bovinos por plantas. *ICA informa*. 17: 6-16.

Villa NA, Ceballos A, Ceron D, Serna CA. 1999. Valores bioquímicos sanguíneos en hembras Brahman bajo condiciones de pastoreo *Pesq Agropec Bras. Brasília*. 34: 2339-2343.

Wang Y, Majak W, McAllister TA. 2012. Frothy bloat in ruminants: Cause, occurrence, and mitigation *Strategies Anim Feed Sci Tech*. 172: 103– 114.

Capítulo 3. Patología de la exposición experimental a *E. cyclocarpum* en el ganado bovino en Colombia

Leonardo Roa¹, Benjamín Doncel Díaz²

¹ Laboratorio de Patología Veterinaria- Facultad de Ciencias Pecuarias, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (U.D.C.A). Bogotá – Colombia. Sur América.

² Laboratorio de Patología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.

Resumen

El potencial tóxico del *E. cyclocarpum* en bovinos de los Llanos Orientales de Colombia fue evaluado mediante la exposición experimental a los frutos. 12 bovinos hembras de 150 kg \pm 10 kg, distribuidos al azar en cuatro grupos de tres animales como sigue: Grupo 1, control (recibieron forraje fresco) y los otros grupos recibieron el fruto en las siguientes dosis: Grupo 2, 10 g/kg PV dosis única, Grupo 3, 10 g/kg PV diario y el Grupo 4, 20 g/kg PV diario; tiempo experimental proyectado 15 días. Se realizó evaluación clínica completa. Los grupos experimentales desarrollaron dos formas de presentación: 1) Aguda con afectación del tracto digestivo, sistema nervioso y tegumentario. 2) Subcrónico con compromiso de los mismos sistemas pero el grado de severidad menor. Se hizo necropsia estándar, toma de muestras de tejidos, coloreadas por la técnica de H&E de rutina. Se encontró erosión y ulceración de los pre-estómagos, congestión, edema y hemorragias en múltiples órganos, necrosis en el hígado, degeneración hidrópica en hígado y riñón, y fotosensibilización. El estudio demostró que el *E. cyclocarpum* es tóxico para los bovinos bajo las condiciones agroecológicas de los Llanos Orientales de Colombia; los nuevos aportes de la intoxicación por *E. cyclocarpum* son las diferentes formas de presentación de la intoxicación de acuerdo con la dosis y la frecuencia de administración, el análisis integral sistémico completo. Los resultados confirman que la planta y el manejo de los sistemas de producción bovina en los Llanos Orientales de Colombia serían en parte los responsables de las pérdidas económicas para este gremio.

3.1. Introducción

E. cyclocarpum es una leguminosa endémica o nativa de diferentes regiones de América, en Colombia se distribuye en el bosque seco tropical identificada en los departamentos de la costa Atlántica, Antioquia, Valle del Cauca, Huila, Tolima, Meta y Casanare (Tamayo, 1996). La fructificación inicia en febrero y alcanzan su madurez máxima en entre abril y julio.

En América y especialmente en Brasil se describe el efecto tóxico de algunas especies de *Enterolobium* sp, como *E. gummiferum* y *E. contortisiliquum* con cuadros digestivos o abortivos (Mello et al., 2010). Mendonça et al., (2009) describen la intoxicación experimental con dosis únicas de vainas de *E. contortisiliquum*, identificada como tóxica para bovinos y caprinos en el estado de Matto Grosso – Brasil, las dosis usadas fueron 5, 9 y 12 g/kg y encontraron ictericia, alteraciones vasculares severas, degeneración hepática y colangitis. Negrón et al. (1993) administraron harina de *E. cyclocarpum* a bovinos en la región del Zulia – Venezuela, cuando incluyeron el 75% de harina en la dieta los animales sufrieron problemas dermatológicos y algunas alteraciones hematológicas; sin embargo, no evaluaron alteraciones patológicas en otros órganos.

El efecto toxico y las alteraciones anatomopatológicas en bovinos expuestos a *E. cyclocarpum* no son claras. Tokarnia et al. (1999) desarrollaron experimentos para evaluar el potencial toxico de algunas especies de *Enterolobium* (*E. contortisiluquum* y *E. timbouva*) usaron dosis únicas y repetidas; lograron reproducir enteritis pero no reprodujeron la fotosensibilización citada en casos de campo. Mendonça et al. (2009) evaluaron el potencial tóxico de *E. contortisiliquum* en la zona occidental de Brasil encontrando resultados similares. El propósito de este estudio fue determinar las alteraciones anatomopatológicas en bovinos expuestos a *E. cyclocarpum* bajo las condiciones agroecológicas de los Llanos Orientales de Colombia,

Correspondencia al autor. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (U.D.C.A), Facultad de Ciencias Pecuarias. Calle 222 No. 55-37. Bogotá – Colombia. Sur América
Dirección electrónica: leroa@udca.edu.co

3.2. Materiales y métodos

Colección del material vegetal

Se recolectaron frutos (vainas) frescos durante el periodo de abril a mayo de *E. cyclocarpum* (Fig. 3-1), en las fincas ganaderas con reportes de intoxicaciones por esta planta ubicadas en

los Llanos Orientales de Colombia (Lozano et al., 2011).



Figura 3-1. *E. cyclocarpum*, frutos maduros. Las vainas de color marrón de aproximadamente 15 cm de diámetro. La semilla es elipsoide de aproximadamente 2 cm de longitud de coloración marrón con centro negro.

Animales experimentales

Se emplearon 12 bovinos hembras, cebú comercial en buen estado de salud, homogenizadas por genética: (cruce de cebú puro) por (cebú comercial y *Bos taurus*); edad 1 año \pm 2 m; peso 150 \pm 10 kg. Todos los animales fueron vermifugados previamente con ivermectina, dosis 200 μ /kg PV por vía subcutánea. Los bovinos fueron pesados (peso inicial) e identificados. Los datos fueron registrados en historias clínicas individuales actualizadas durante la fase experimental; los bovinos fueron semi-estabulados en la zona rural del departamento de Meta, alimentados bajo la modalidad de pastoreo en sabana natural (*T. vestitus*), sal mineralizada del 8 % de fósforo, concentrado 1 kg/día por animal y agua a voluntad por 15 días (periodo de adaptación).

Grupos experimentales

Los animales fueron distribuidos al azar en cuatro grupos experimentales de tres individuos cada uno. Al grupo control (grupo 1) no se le administró el fruto. A los animales del grupo 2 se les administró una dosis de 10 g/kg PV; al grupo 3, 10 g/kg PV dosis diaria y al grupo 4, 20 g/kg PV dosis diaria (Tabla 3-1). El periodo experimental planteado fue de 15 días se

usaron las instalaciones del Hato Casona, ubicado en la vereda Brisas del Ovejas del Municipio Mapiripán, Meta; el Hato Casona está localizado en las siguientes coordenadas tomadas con GPS: Longitud: 2°50'49.3" N, Latitud: 72°23'01.3" W, altura: 214 m s.n. m y T° 26,5°C y la humedad relativa es de 75-80 % en invierno. Las vainas de *E. cyclocarpum*, colectadas fueron pesadas y organizadas por dosis de acuerdo con los tratamiento. Se administraron completas para consumo voluntario. Las raciones fueron suministradas en la dosis diaria planteada en la mañana, antes del acceso al forraje tradicional y concentrado.

Tabla 3.1 Grupos experimentales. Intoxicación experimental con frutos *E. cyclocarpum* en ganado bovino en los Llanos Orientales de Colombia.

| Grupo | No. Bovinos | Dosis vaina fresca (Tratamiento) | Días experimentales proyectados |
|-------|-------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| 1 | 3 | Control | 15 |
| 2 | 3 | 10 g/kg PV dosis única | 15 |
| 3 | 3 | 10 g/kg PV dosis diaria | 15 |
| 4 | 3 | 20 g/kg PV dosis diaria | 15 |

Examen clínico y toma de muestras

Todos los procedimientos contaron con el visto bueno del comité de Bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia. A los animales les realizaron examen clínico completo y el final la fase experimental estuvo definida por el desarrollo de signos (Tabla 3-2). Se realizó el sacrificio de las unidades experimentales siguiendo los lineamientos éticos recomendados para la especie mediante la administración de pentobarbital sódico, a dosis de 60 mg/kg intravenoso (ANZCCART, 2001; AVMA Guidelines on Euthanasia, 2007; Practical euthanasia of cattle, 2013). Se hizo necropsia completa estándar, registro de los hallazgos macroscópicos, la toma de muestras de tejidos para histopatología; los tejidos fueron conservados en formaldehído buferado al 3,7 % por 24 h y procesados por la técnica de rutina de H&E (Luna, 1968).

Tabla 3-2. Parámetros definidos para la culminación del periodo experimental

| Signo | Grado | | | Determinación |
|-----------------------------------|-------|----------|--------|--|
| | Leve | Moderado | Severo | |
| Manifestaciones de dolor y fiebre | X | | | Manejo médico |
| | | X | | Manejo médico cuando la eutanasia no se puede hacer inmediatamente |
| | | X | | Eutanasia |
| Diarrea | X | | | Eutanasia |
| Desarrollo de fotosensibilización | X | | | Eutanasia |
| Postración | | | | Eutanasia |
| Alteraciones de la conciencia | | X | | Eutanasia |

Registro de datos y análisis estadístico

Los datos fueron tabulados en tablas de Excel ®. Se hizo estadística descriptiva y para mostrar los datos se utilizaron histogramas de frecuencia. Se aplicó una prueba estadística de independencia (χ^2) con el fin de establecer relación entre los tratamientos y las variables respuesta, las diferencias significativas se consideraron cuando $p < 0,05$.

3.3 Resultados

La exposición de bovinos a frutos de *E. cyclocarpum* que creció bajo las condiciones agroecológicas de Llanos Orientales de Colombia mostró que los hallazgos macroscópicos dependen de la dosis y la frecuencia de la misma. Los animales del grupo control, no desarrollaron ninguna alteración patológica. Los animales del grupo 4, desarrollaron signos progresivos en las primeras 24 h, inicialmente hubo deshidratación leve, resequedad del morro, depresión, temores, hipermotilidad intestinal, dilatación abdominal (timpanismo), anorexia, eritema de la piel auricular en menor grado; después de la segunda dosis los signos fueron moderados, entre la tercera dosis y las 96 h los signos se agudizaron, los animales quedaron en decúbito (external y lateral) patológico; debido al deterioro severo

de la salud los bovinos fueron sacrificados. Los bovinos del grupo 3 desarrollaron signos similares al grupo 4; sin embargo, los primeros signos aparecieron luego del suministro de la tercera dosis; al proporcionar la sexta dosis la sintomatología alcanzó el pico de expresión entre el cuarto y sexto día; al octavo día post exposición fueron sacrificados. Los animales del grupo 2 mostraron signos entre las 24 y 48 h post exposición: timpanismo leve, hipomotilidad ruminal e intestinal, depresión leve, anorexia, acompañados de escasos temores musculares; todos fueron transitorios y desaparecieron gradualmente entre las 48 y 96 h; los animales de este grupo se mantuvieron hasta el final del periodo experimental planteado. El control fue sacrificado simultáneamente con cada grupo experimental.

Hallazgos macroscópicos

En los animales del grupo 3 y en menor grado los del grupo 4 tuvieron las siguientes lesiones dermatológicas: ulceración, eritema, hiperqueratosis, descamación en la zona facial, auricular, pectoral, cuello, y muslos de grado moderado a severo (Fig. 3-2 A y B). Los tejidos subcutáneos (grasa y fascias musculares) en los grupos 3 y 4 mostraron ictericia moderada (Fig. 3-2 C)



Figura 3-2. Hallazgos de necropsia en bovinos expuestos a *E. cyclocarpum* . Grupo 3. A: Pabellón auricular, eritema moderado (flecha). **B:** Plano nasal o trufa, hiperqueratosis y descamación (flecha). **C:** Tejido subcutáneo, ictericia moderada.

Cavidad abdominal dilatación (timpanismo) severa en el grupo 4 y moderada en el grupo 3, el contenido de los pre-estómagos fue material vegetal fibroso, fragmentos de vainas, semillas y abundante líquido espumoso blanquecino. La túnica mucosa de los pre-estómagos de los animales de los grupos 4 y 3 tenían erosiones y congestión moderada (Figura 3-3 A y B); en el grupo 2 se encontraron erosiones y congestión multifocal, más evidentes en la mucosa abomasal (Figura 3-3 C) y duodenal. El hígado de los animales

que consumieron *E. cyclocarpum* tenía los bordes redondeados y dilatación de la vesícula biliar moderada, siendo más evidente en el en el grupo 3. (Fig. 3- 3 D)

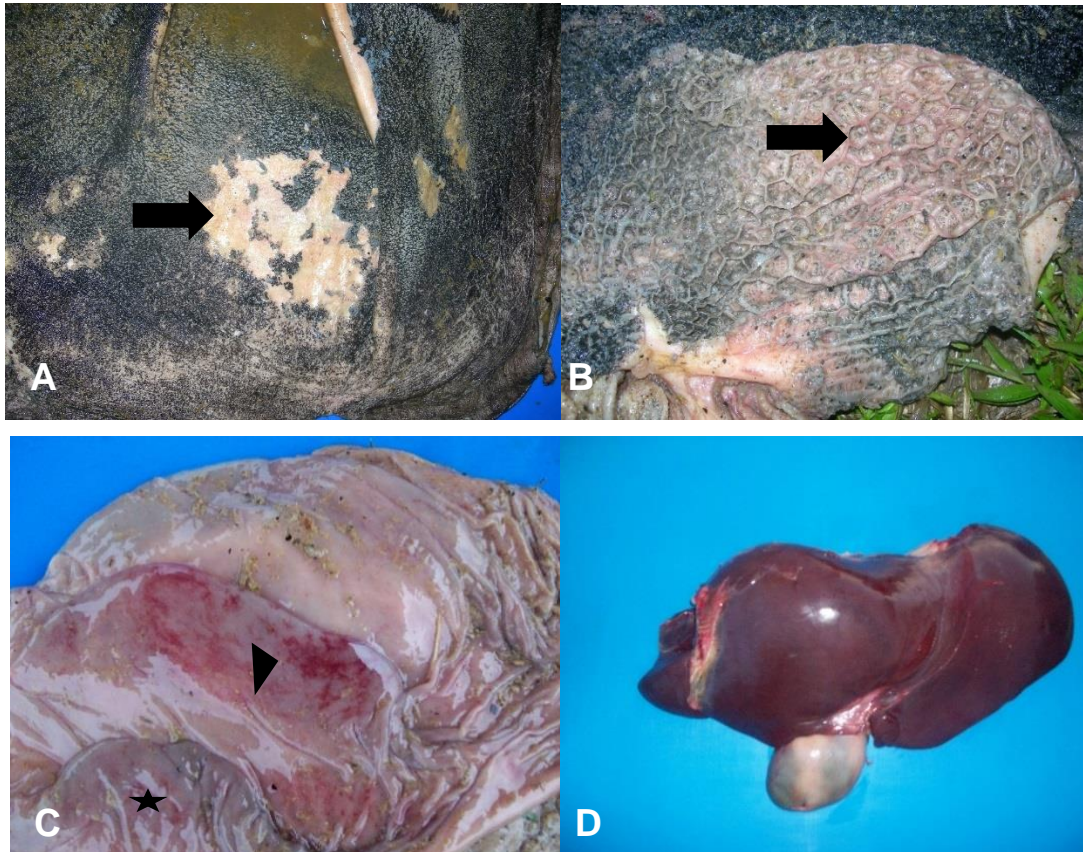


Figura 3- 3. Hallazgos en los pre-estómagos, abomaso e hígado en bovinos expuestos a *E. cyclocarpum* **A:** Rumen, en la túnica mucosa erosión epitelial localmente extensa (flecha). **B:** Retículo, en la túnica mucosa congestión generalizada severa. **C:** Abomaso, en la túnica mucosa erosión (asterisco) y congestión moderada (cabeza de flecha). **D.** Hígado, redondeamiento leve y dilatación moderada de la vesícula biliar.

En los grupos 2 – 4 en la cavidad pericárdica había aumento del volumen de líquido serosanguinolento moderado, los animales del grupo control no mostraron alteraciones. En el endocardio había múltiples hemorragias equimóticas en el tabique interventricular en los animales de los grupos 3 y 4. Los pulmones colapsó parcial y congestión multifocal más severa en el grupo 4 y ausente en los grupos 2 y 1. Los vasos menígeos de los animales de los grupos 3 y 4 tenían arborización severa. En los

órganos linfoides aumento de tamaño leve y algunas zonas rojizas, en los animales del grupo 3 y 4.

Hallazgos microscópicos

Los hallazgos microscópicos variaron de acuerdo con la dosis y la frecuencia de administración, en los animales del grupo control no hubo alteraciones patológicas. Los principales cambios microscópicos del tracto digestivo son ilustrados en la figura 3-4.

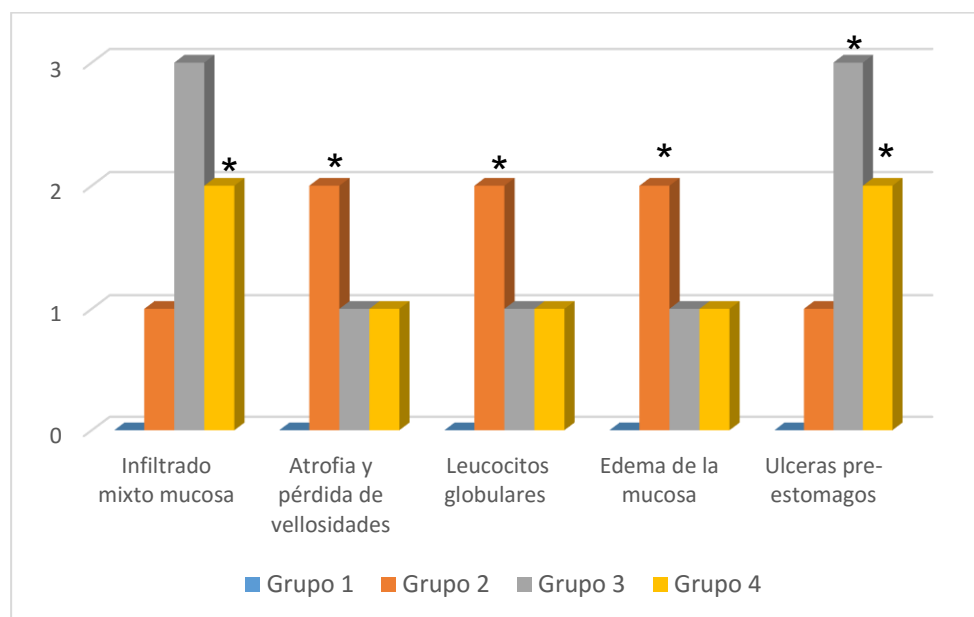


Figura 3-4. Principales lesiones histológicas del tracto digestivo y grado de severidad en bovinos expuestos a *E. cyclocarpum*. 0: Normal; 1: Leve; 2: Moderado; 3: Severo. * $p < 0,05$.

En los grupos 3 y 4 se encontraron lesiones microcirculatorias e inflamatorias, específicamente en los pre-estómagos, abomaso, duodeno y yeyuno; en resumen: congestión severa y edema moderado de la túnica mucosa, focos de ulceración (Fig. 3-5 B) e infiltrado inflamatorio mixto (MN, PMN, leucocitos globulares) leve a moderado (Fig. 3-5 C y D); en túnica submucosa: edema moderado, congestión generalizada y escasas hemorragias moderadas. En relación con los animales del grupo 2 hubo edema leve, leucocitos globulares leve, infiltrado inflamatorio MN de tipo linfocítico leve, atrofia de la mucosa en duodeno y yeyuno moderada. La prueba estadística mostró relación entre los

tratamientos de los grupos 3 y 4 con el infiltrado inflamatorio y el edema; el tratamiento del grupo 2 tuvo relación con el edema, leucocitos globulares y la atrofia de las vellosidades.

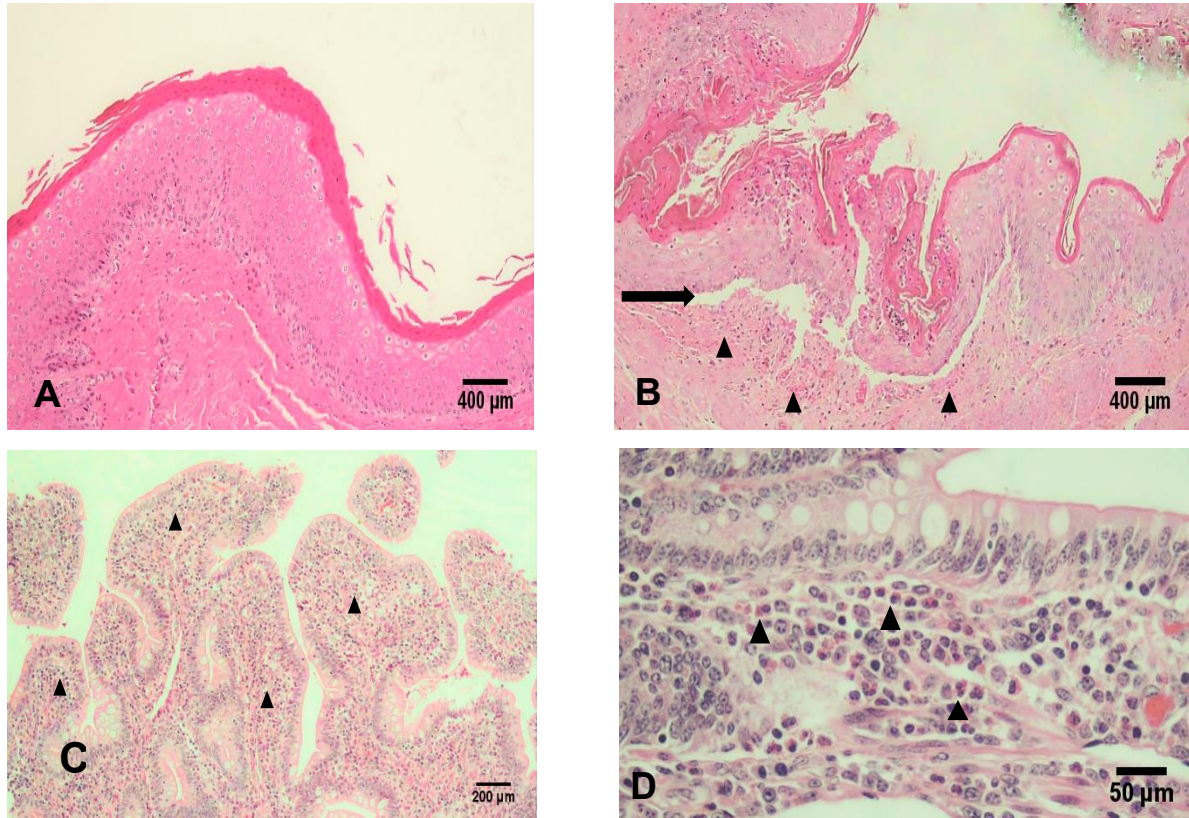


Figura 3-5. Rumen y yeyuno de bovinos expuestos a *E. cyclocarpum* . H&E **A:** Rumen normal, grupo 1. **B:** Rumen, nótese el desprendimiento de la superficie epitelial de la papila (flecha), congestión e infiltrado inflamatorio mixto (cabezas de flecha), grupo 3. **C:** Yeyuno, infiltrado inflamatorio mixto severo (cabezas de flecha), grupo 2. **D.** Yeyuno, infiltrado inflamatorio mixto (MN y PMN) leve y cantidad moderada de leucocitos globulares (cabezas de flecha), grupo 2.

Las principales alteraciones patológicas del parénquima hepático se relacionaron con necrosis, redondeamiento de hepatocitos (degeneración hidrópica), binucleaciones de los mismos, fibrosis portal, cambios microcirculatorios (congestión y dilatación de sinusoides) (fig. 3- 6).

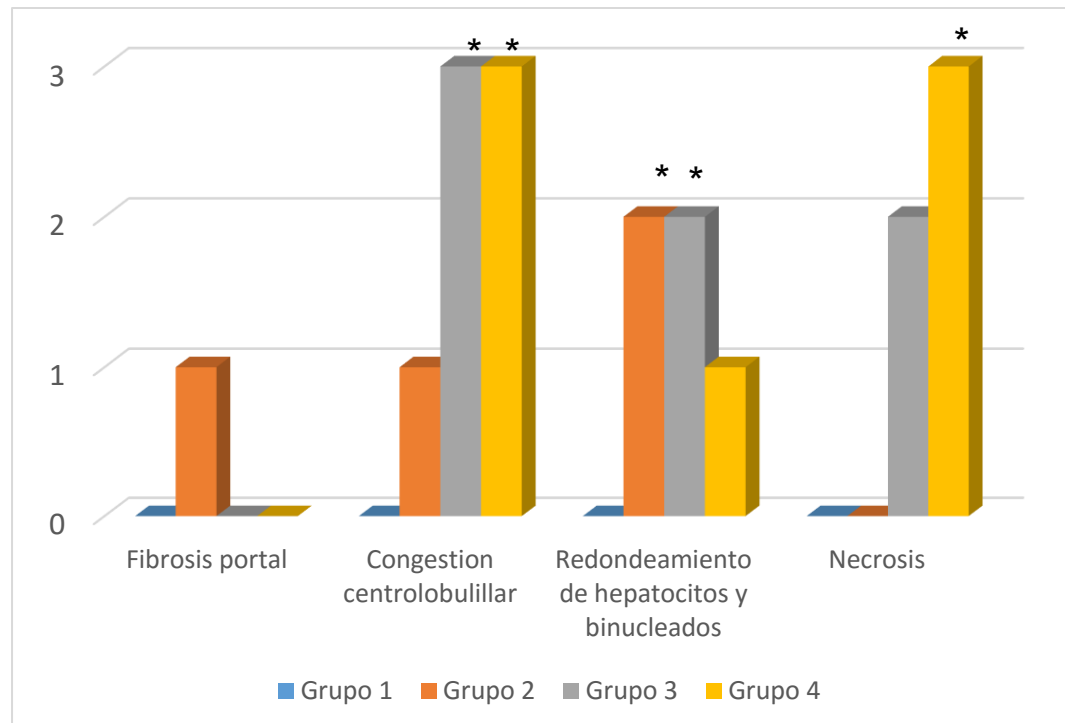


Figura 3-6 Hígado. Lesiones histológicas y grado de severidad en bovinos expuestos a *E. cyclocarpum*. 0: Normal; 1: Leve; 2: Moderado; 3: Severo. *: $p < 0,05$.

Los grupos 3 y 4 desarrollaron el espectro más amplio de lesiones: muerte celular individual y focos extensos de necrosis (Fig. 3-7 D); en general, hubo predominio de alteraciones microcirculatorias (congestión, edema y hemorragia) moderadas, cambios vacuolares leves y dilatación de los sinusoides leve. En adición los grupos 2 y 3 se encontraron escasos focos de fibrosis de las zonas portales, redondeamiento de hepatocitos (degeneración hidrópica) (Fig. 3-7 B) y algunos binucleados (3 por campo de 400X) (Fig. 3-7 C). En los animales del grupo control no hubo lesiones patológicas. Las variables analizadas en el parénquima hepático mostraron relación estadística con los tratamientos de los grupos 3 y 4 fueron la congestión, la muerte celular individual y los focos de necrosis. La degeneración hidrópica de hepatocitos, binucleaciones, los cambios vacuolares y la dilatación de sinusoides se relacionaron con los tratamientos de los grupos 2 y 3. La fibrosis portal solamente se describió en el grupo 2.

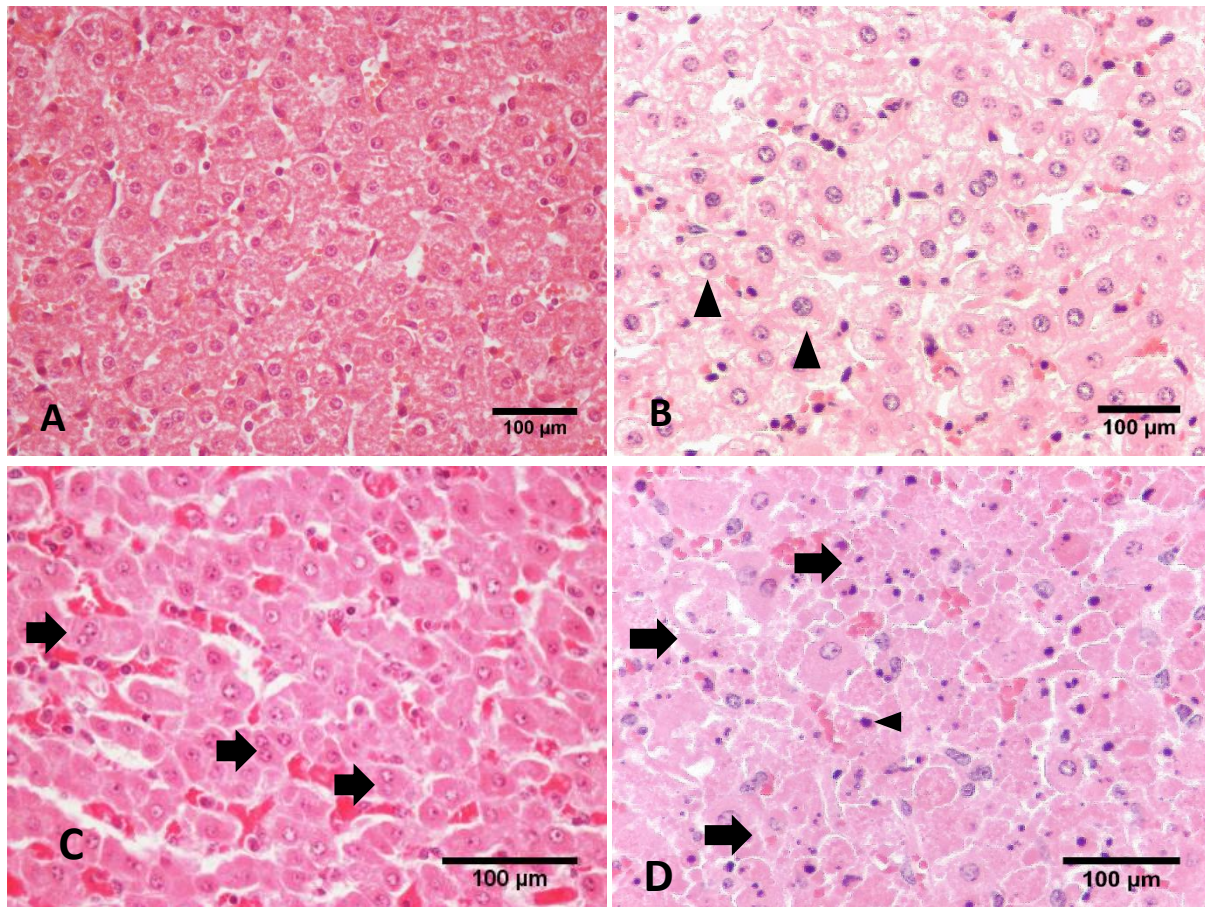


Figura 3-7. Hígado de bovinos expuestos a *E. cyclocarpum* H&E. A: Normal, Grupo 1, control. **B:** degeneración hidrópica moderada (cabezas de flecha), grupo 3. **C:** hepatocitos binucleados (flechas), grupo 2. **D:** Focos de necrosis o muerte de hepatocitos extensa severa, note los detritus celulares (flechas) y núcleos picnóticos (cabeza de flecha), grupo 4.

En el sistema tegumentario no hubo lesiones patológicas en el grupo control. En los grupos expuestos a *E. cyclocarpum* hubo lesiones de diferentes grados de severidad (Fig. 3-8). Las alteraciones fueron más severas las de los animales del grupo 3, seguidas por los del grupo 4; se observó: ulceración (Fig. 3-9 C), descamación, hiperpigmentación (Fig. 3-9 B), atrofia epidermal, focos de hemorragia, fibrina, congestión e infiltrado inflamatorio mononuclear perivascular leve; sin embargo, en los bovinos del grupo 2 hubo alteraciones microcirculatorias de diferentes grados de severidad: congestión, edema perivascular e infiltrado inflamatorio leve MN y PMN perivascular (Figura 3-9)

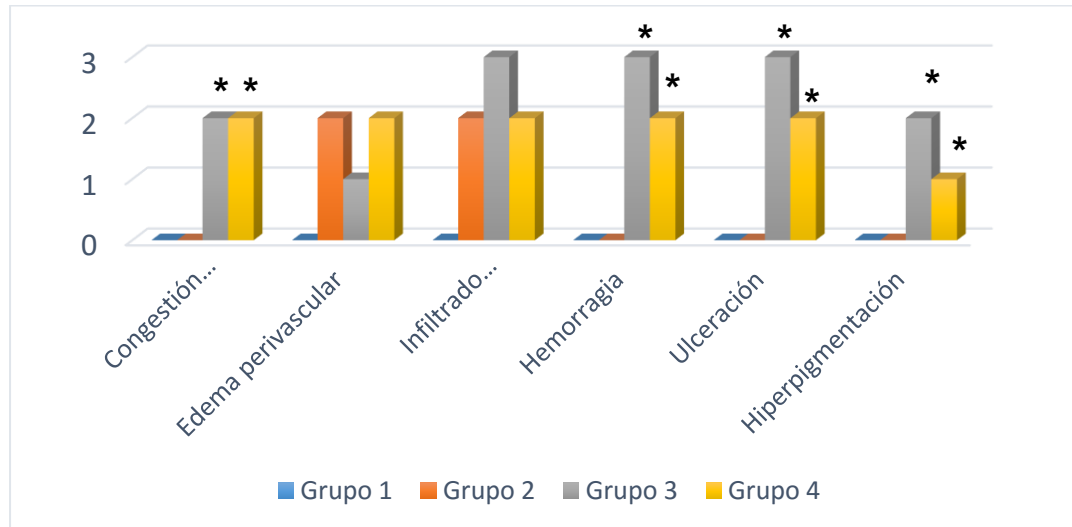


Figura 3-8. Piel. Lesiones y grado de severidad en bovinos expuestos a *E. cyclocarpum*. 0: Normal; 1: Leve; 2: Moderado; 3: Severo. *: $p < 0,05$.

Una vez realizado el análisis estadístico se encontró relación entre la ulceración, hiperpigmentación, congestión y hemorragia con los tratamientos de los grupos 3 y 4 expuestos a dosis repetidas; el edema e infiltrado inflamatorio con los tratamientos de todos los grupos expuestos y la atrofia epidermal se relacionó con el tratamiento del grupo 2.

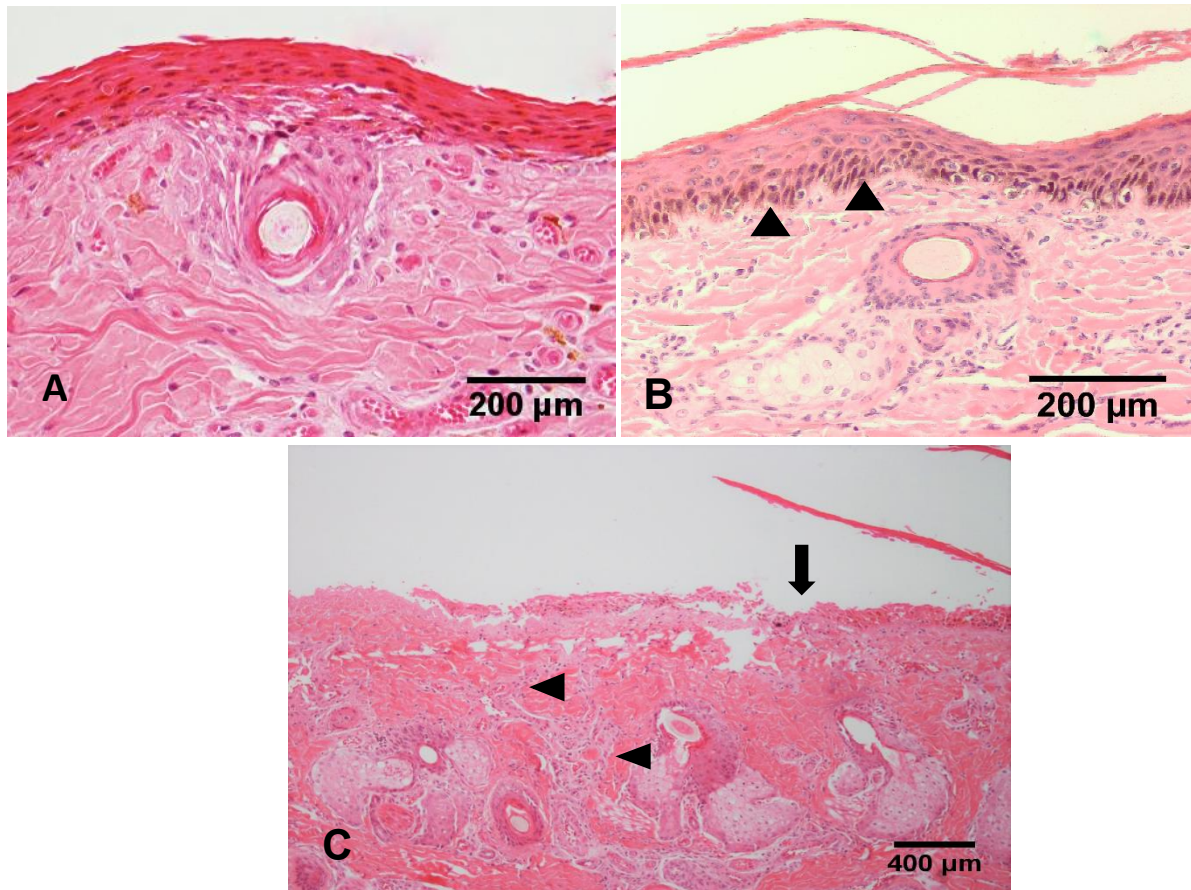


Figura 3-9 Piel de bovinos expuestos a *E. cyclocarpum*. H&E. A. Normal grupo 1, control. **B.** Hiperpigmentación moderada (cabezas de flecha), grupo 3. **C.** Ulceración extensa (flecha) e infiltrado inflamatorio mixto perivascular (cabezas de flecha), grupo 3.

En el parénquima pulmonar de los animales expuestos hubo congestión, edema intersticial, engrosamiento de los septos alveolares, infiltrado inflamatorio mononuclear y microtrombosis; el grado de severidad varió de leve a severo; los cambios de mayor severidad los que desarrollaron animales expuestos a la dosis de 20 g/kg diario (grupo 4). En los animales del grupo control no hubo lesiones patológicas. El análisis estadístico demostró que las lesiones citadas en el pulmón dependen de la dosis, es decir a mayor dosis mayor lesión pulmonar. Específicamente hubo relación del tratamiento del grupo 4 con el engrosamiento de septos alveolares, el infiltrado inflamatorio y el edema intersticial; no hubo relación en los anteriores parámetros con los demás tratamientos evaluados.

El parénquima renal de los animales de los grupos expuestos a *E. cyclocarpum* tuvieron lesiones patológicas más severas, en el grupo 3 (Fig. 3-10); en resumen: congestión generalizada severa, cilindros de proteína severa, vacuolización del epitelio tubular (degeneración hidrópica) moderada y necrosis.

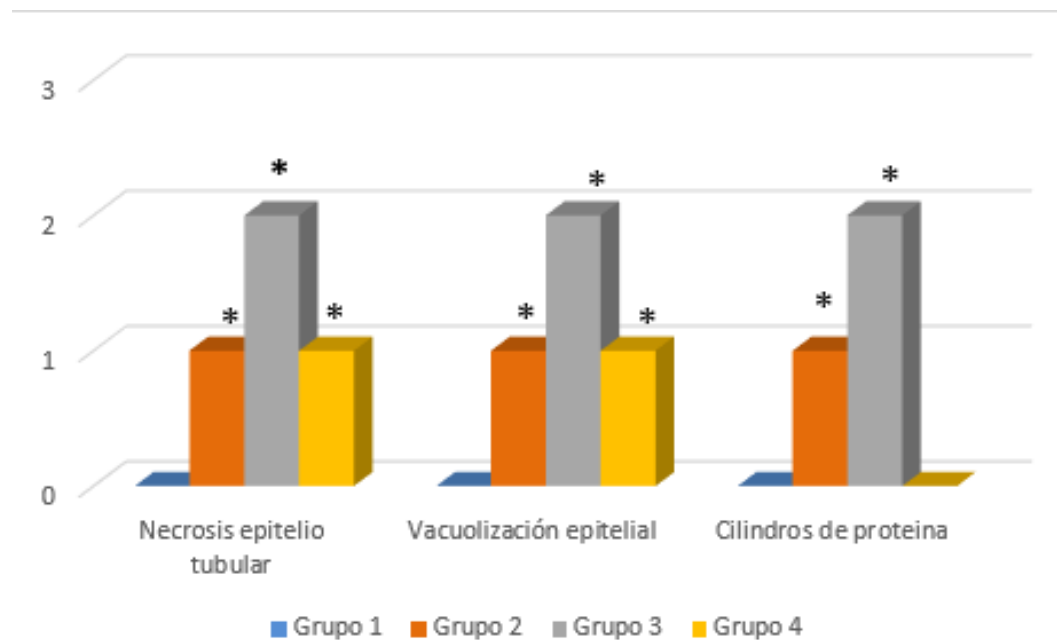


Figura 3-10. Riñón. Lesiones y grado de severidad en bovinos expuestos a *E. cyclocarpum*. 0: Normal; 1: Leve; 2: Moderado; 3: Severo. *: $p < 0,05$.

Cambios similares aparecieron en los grupos 2 y 4 pero el grado de severidad fue leve. En el grupo control no hubo alteraciones patológicas (Figuras 3-11). La prueba estadística mostró que las alteraciones citadas en los riñones tuvieron relación con los tratamientos.

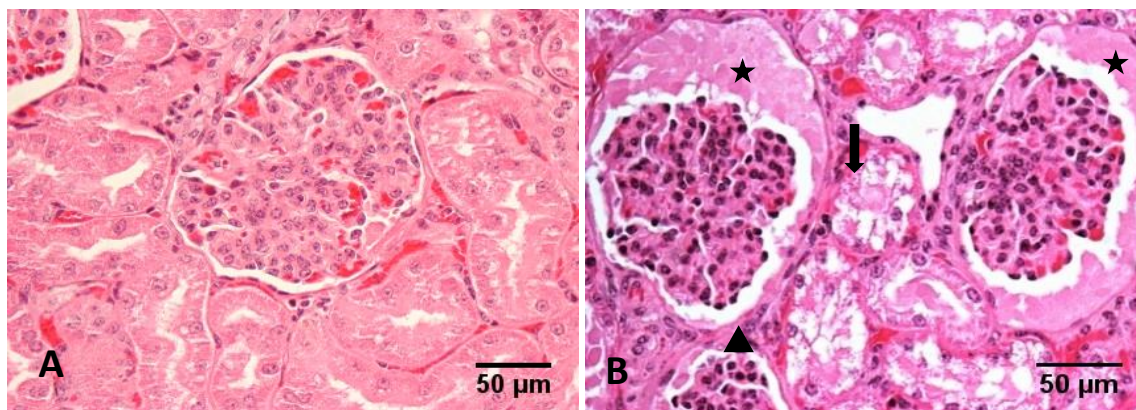


Figura 3-11. Hallazgos microscópicos del tejido renal en bovinos expuestos a *E. cyclocarpum*. H&E 400X. A. Normal grupo 1, control. B. Cilindros de proteína de grado severo, nótese el acumulo en el espacio de Bowman (asteriscos), degeneración hidrópica y necrosis del epitelio tubular (flecha), grupo 3.

3.4 Discusión

Los estudios desarrollados sobre *Enterolobium* spp, demuestran el efecto clínico y tóxico de las especies *E. contortisiliquum* y *E. gummiferum* pero existen escasas publicaciones relacionadas con los efectos del *E. cyclocarpum*; los trabajos disponibles están enfocados en el uso como alternativa de alimentación animal. A pesar del reconocimiento como planta tóxica no existen estudios específicos que describan el espectro sistémico de alteraciones anatomopatológicas para esta especie vegetal en el ámbito internacional y nacional. Este trabajo presenta por primera vez en nuestro contexto el efecto de la exposición a *E. cyclocarpums* se demostró que indujo timpanismo, diarrea y fotosensibilización hepatógena; Negrón et al. (1993) describió un cuadro de fotosensibilización con la exposición de bovinos a harina de *E. cyclocarpum* en la región del Zulia en Venezuela. Tokarnia et al. (1999) expusieron bovinos a *E. contortisiliquum* y *E. timbouva* a dosis únicas y repetidas desde 1,25 g/kg hasta 20 g/kg y encontraron ictericia, contenido de material vegetal de la planta en el tracto digestivo e infartos renales no reprodujeron la fotosensibilización citada en brotes de campo, lo demás hallazgos fueron similares a los descritos en el actual trabajo pero el grado de severidad de las lesiones fue mayor, se debe resaltar que la especie vegetal es diferente. Los resultados confirman los hallazgos de Peña et al. (2011) en una

intoxicación de campo e indican que el *E. cyclocarpum* es tóxico para la ganadería en Colombia y causa fotosensibilización. Se propone que las dosis repetidas, la cantidad de dosis y posiblemente la mayor concentración de metabolitos secundarios de esta planta bajo las condiciones agroecológicas de los Llanos Orientales de Colombia, son factores relacionados con el desencadenamiento del cuadro tóxico; la concentración de metabolitos debe ser confirmada.

Los frutos de *E. cyclocarpum* contienen alto contenido proteico, carbohidratos y saponinas, generando las condiciones propicias en el ambiente ruminal para la acumulación de gas; algunas de estas características descritas en el timpanismo espumoso (Wang et al., 2012). La rápida digestibilidad proteica favorece el aumento de la fase líquida ruminal y la acumulación de gas producto de la fermentación y la acumulación en las espumas generadas por las saponinas, desencadenando el timpanismo citado en los grupos 2, 3 y 4. Se podría pensar y según los resultados de Aregheore (1999) y Serratos et al. (2008) las saponinas se unen minerales y electrolitos como Na, K, Ca y forman complejos que favorecen la retención de líquido en el saco ruminal, disminuyen la biodisponibilidad de estos elementos para el animal, la pérdida de protozoarios entonidiomorfos que normalmente consumen los cloroplastos facilita la acumulación de los últimos y la formación de espumas (Espinasse et al., 1995).

La instauración del proceso inflamatorio del tubo digestivo se relacionó directamente con la alteración física de la barrera mucosa; se sabe que las saponinas ejercen un efecto irritativo sobre la mucosa de TGI, fenómeno que favorece la síntesis de sustancias proinflamatorias a partir del ácido araquidónico y la quimiotaxis de glóbulos blancos. Sin descartar la acción de algunos ácidos como el láctico que podría llevar a efectos similares.

Los hallazgos microscópicos del tracto digestivo como edema moderado, congestión moderada, las hemorragias, el infiltrado inflamatorio mixto y los leucocitos globulares no descritos en el proceso tóxico por esta especie vegetal serían el aporte del trabajo. Ikeda y Yamashina (1993) demostraron el origen embrionario común entre las células de mast y los leucocitos globulares.

Es importante considerar el papel que jugaría la absorción de algunos metabolitos secundarios en la ulceración ruminal, cambio hidrópico y muerte de hepatocitos, porque

las lesiones fueron más severas en los grupos con mayor exposición y dosis altas de *E. cyclocarpum* (grupos 3 y 4), tales hallazgos indican que el daño celular depende de la dosis y frecuencia.

Los animales de los grupos 3 y 4, desarrollaron lesiones dermatológicas concordantes con la fotosensibilización reportada por Negrón et al. (1993) quienes en un ensayo nutricional indujeron accidentalmente, fotosensibilización en bovinos cuando incluyeron el 75 % de harina del fruto de *E. cyclocarpum* en la dieta. En el actual trabajo la fotosensibilización fue descrita en diferentes grados de severidad en los grupos de mayor frecuencia de exposición al material vegetal y dosis altas, hallazgos no reportados en la literatura que permiten proponer al *E. cyclocarpum* como tóxico para los bovinos bajo las condiciones ambientales de los Llanos Orientales de Colombia.

La fotosensibilización descrita y la escasa lesión hepática de tipo crónico señala el posible efecto agudo de metabolitos como las saponinas sobre la función del hepatocito y explica la ictericia; sin embargo, en el estudio no se encontraron cristales en la luz de los canalículos biliares, como se reporta con las saponinas del pasto *Brachiaria* sp. (Faccin et al., 2014). Hipotetizamos que la ictericia y la fotosensibilización serían consecuencia de metabolitos entre estos las saponinas del *E. cyclocarpum* sobre la estructura de la membrana celular y la permeabilidad endotelial; la capacidad de las saponinas para interactuar con la membrana celular, es uno de los factores que explicaría la muerte de hepatocitos, la lesión endotelial y posiblemente la muerte celular en diversos órganos y estructuras como la microvasculatura de la piel, como lo cita el estudio de citotoxicidad desarrollado por Sowemimo et al. (2015) quienes demostraron la capacidad de los extractos de *E. cyclocarpum* en el desencadenamiento de la muerte celular en cultivos celulares a las 48 h de tratamiento; hallazgo relacionado con alteraciones de la integridad de la membrana celular, fragmentación del ADN, detención del ciclo celular e inducción de la apoptosis por activación de la caspasa 3.

En conclusión, los frutos del *E. cyclocarpum* es tóxico para los bovinos y causa alteraciones patológicas de tipo agudo y subcrónico bajo las condiciones agroecológicas de los Llanos Orientales de Colombia. Esta planta tóxica es causa de morbilidad, mortalidad y pérdidas económicas para sistemas de producción bovina.

3.5 Referencias

ANZCCART 2001 Euthanasia of Animals Used for Scientific Purposes. (en línea) 2001 (fecha de acceso 8 de noviembre de 2011). URL disponible en: <http://www.adelaide.edu.au/ANZCCART/publications/Euthanasia.pdf>.

Aregheore EM. 1999. Nutritive and antinutritive value of some tree legumes used in ruminant livestock nutrition in Pacific island countries. In: J South Pac Agri. 6:50-61.

AVMA Guidelines on Euthanasia (en línea) 2007 (fecha de acceso 6 de noviembre de 2011). URL disponible en: www.avma.org/issues/animal.../euthanasia.pdf.

Espinasse J, Kuiper R, Schelcher F. 1995. Physiopathologie du complexe gastrique. In Nutrition des ruminants domestiques — ingestion et digestion (ed. R. Jarrige, Y. Ruckebusch, C. Demarquilly, M. -H. Farce and M. Journet). 805-852. INRA, Paris.

Faccin T, Riet-Correa F, Rodriguez F, Santos A, Melo G, Silva J, Ferreira R, Itabo C, Lemos R. 2014. Poisoning by *Brachiaria brizantha* in flocks of naïve and experienced sheep. Toxicon, 82: 1-8

Ikeda Y, Yamashima S. 1993. Developmental changes in intestinal globule leukocytes of normal rats. Cell Tissue Res. 273:447-55.

Lozano MC, Doncel B, Moreno CA. 2011. Manual de plantas tóxicas para bovinos. Región Llanos orientales de Colombia: Meta y Casanare. Bogotá, Colombia. Editorial Universidad Nacional de Colombia.

Luna L. 1968. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. McGraw-Hill Book Company. New York, 65- 88.

Mello GWS, Oliveira, DM, Carvalhom CJS, Piresm LV, Costa FAL, Riet-Correa F, Silva SMM. 2010. Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Norte Piauiense Pesq Vet Bras. 30:1-9.

Mendonça F d S, Neto J, Baratella B, Dória R, Freitas S, Pelegrini L Cruz R, Ferreira E, Colodel E. 2009. Natural and experimental poisoning of cattle by *Enterolobium contortisiliquum* pods (Fabaceae Mimosoideae) in Central-Western Brazil. Acta Vet Brno. 78: 621-625

Negrón G, Parra O, Avila N, Hoet A. 1993. Efecto experimental del fruto del *Enterolobium cyclocarpum* (Kara-Kara) en el ganado bovino. Rev Cient (Maracaibo); 3: 1-6.

Peña JD, Grosso DH, Doncel B, Lozano MC y Moreno CA. 2011. Intoxicación natural con el fruto de *Enterolobium cyclocarpum* (caracaro) en bovinos alimentados con pasturas de *Brachiaria decumbens* en los Llanos orientales Colombianos: reporte de caso. Rev Colomb Cienc Pecu. 24: 556.

Practical Eutanasia of cattle. (2013) american association of bovine practitioners http://www.aabp.org/resources/AABP_Guidelines/Practical_Euthanasia_of_Cattle-September_2013.pdf

Serratos JC, Carreón J, Castañeda H, Garzón P, García J. 2008. Composición químico-nutricional y de factores Antinutricionales en semillas de parota (*Enterolobium cyclocarpum*) Interciencia 33: 11

Sowemimo A, Vebables L, Odejji M, Koekemoer T, Vandeventer M, Hongbing L. 2015. Antiproliferative mechanism of the methanolic extract of *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. (Fabaceae). J Ethnophar. 159: 257–261

Tamayo A. 1996. Los árboles leguminosos y su valor nutritivo en la alimentación animal. En: Memorias del curso pasturas tropicales. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. Corpoica Medellín

Tokarnia CH, Döbereiner J, Dutra IS, Brito IS, Chagas BR, França TN, Brust LAG. 1999. Experimentos em bovinos com favas de *Enterolobium contortisiliquum* e *Enterolobium timbouva* para verificar propriedades fotossensibilizantes e/ou abortivas. Pesq Vet Bras. 19: 39-45.

Wang Y, Majak W, McAllister TA. 2012. Frothy bloat in ruminants: Cause, occurrence and mitigation strategies. Animal Feed Science and Technology. 172: 103-11

Capítulo 4. Discusión general

Este trabajo describe por primera vez en nuestro país el efecto de la exposición de bovinos a los frutos de *E. cyclocarpum* recolectados en los Llanos Orientales de Colombia; los frutos indujeron toxicidad aguda en bovinos con las dosis de 10 y 20 g/kg PV diaria y toxicidad subcrónica con una dosis de 10 g/kg PV. Los sistemas afectados fueron el sistema digestivo, el nervioso y el tegumentario. Al comparar los resultados obtenidos aquí con lo reportado por Mendonça et al. (2009) quienes realizaron exposición experimental a tres bovinos con *E. contortisiliquum*, (dosis única de 5, 9 y 12 g/kg) encontramos efecto clínico más amplio: timpanismo espumoso, la fotosensibilización y signos neurológicos/alteración del comportamiento. En el trabajo de Tokarnia et al. (1999) en bovinos expuestos experimentalmente con dosis variables únicas y repetidas entre 1,25 y 20 g/kg de *E. timbouva* y *E. contortisiliquum* (plantas obtenidas de diferentes zonas de Brasil) lograron replicar únicamente con *E. contortisiliquum* cuadros de diarrea pero no replicaron la fotosensibilización citada en brotes de campo. El actual estudio empleó una especie diferente a las antes citadas. Los resultados de los hallazgos clínicos permiten proponer que el *E. cyclocarpum* desencadena timpanismo de diferente grado de severidad y tiempo de evolución con dosis únicas y repetidas y fotosensibilización con dosis baja pero a mayor frecuencia (grupo 3) y dosis altas repetidas (Grupo 4) bajo las condiciones agroecológicas de los Llanos Orientales de Colombia; confirma fotosensibilización reportada en brotes de campo en bovino de la misma región (Peña et al., 2011)

E. cyclocarpum es una leguminosa, los frutos son ricos proteína, carbohidratos y saponinas que generan condiciones propicias en el ambiente ruminal para la acumulación de gas; timpanismo espumoso descrito por Wang et al. (2012). La rápida digestibilidad proteica favorece el aumento de la fase líquida ruminal y la acumulación de gas (timpanismo) producto de la fermentación. De acuerdo con los resultados de Aregheore (1999) y Serratos et al. (2008), las saponinas unen a varios minerales y electrolitos como el Na, K, Ca que favorecen la retención de líquido en el saco ruminal, la disminución de la biodisponibilidad de estos elementos para el animal y la pérdida de protozoarios entonidiomorfos que normalmente consumen los cloroplastos, hay acúmulo de los últimos y formación de espumas (Espinasse et al., 1995). Es posible que efectos similares ocurren

para explicar el timpanismo inducido por *E. cyclocarpum*. Desde el punto de vista clínico, las variaciones en la frecuencia respiratoria se relacionaron con hipoxia tisular. La hipoxia es consecuencia del timpanismo y los eventos microcirculatorios que afectan el intercambio gaseoso. El organismo responde con aumento compensatorio en la frecuencia respiratoria (Wang et al., 2012).

La afección neurológica (depresión, sialorrea y tremores musculares) podrían explicarse por el desequilibrio hidroelectrolítico y el efecto de sustancias proinflamatorias (Borges and Ferraz, 2006). Situación que debe ser confirmada.

Los cambios macroscópicos en la piel de los animales con mayor tiempo de exposición fueron compatibles con alteraciones propias de fotosensibilización hepatotóxica. Los animales que tuvieron dosis repetidas (10 y 20 g/kg diaria PV), desarrollaron lesiones dermatológicas descritas en fotosensibilización. Tales hallazgos son concordantes con lo reportado por Negrón et al., (1993). En actual trabajo los animales expuestos a *E. cyclocarpum* mostraron lesiones hepáticas, ictericia, aumento en la enzima AST, el último hallazgo de química sanguínea que indicaría lesión hepática (Villa et al., 1999) similar a lo reportado por Mendonça et al. (2009). Datos anatomopatológicos, clínicos y paraclínicos que confirman el origen hepatógeno de la fotosensibilización.

La exposición a *E. cyclocarpum* desencadenó el aumento de metabolitos que definen el funcionamiento del parénquima renal como el BUN y la creatinina (Harper et al., 1982). La elevación en el BUN fue directamente proporcional a la dosis y frecuencia de exposición, la alteración se mantuvo en el tiempo ya que en los animales del grupo 2, a pesar de retirar el fruto tuvieron elevación al final del experimento; en ambas situaciones es fundamental evaluar el impacto de la anorexia, la depresión sobre la hidratación y la volemia, además del efecto de metabolitos del *E. cyclocarpum* sobre el parénquima renal y el endotelio.

Las alteraciones de los hepatocitos (degeneración hidrópica y muerte celular) y epitelio tubular renal ocurrieron en los animales con mayor dosis de exposición; estos hallazgos son indicadores de que el daño celular depende tanto del tiempo de exposición como de la dosis pero debe ser confirmada la posible lesión de directa de metabolitos.

Los trabajos de Petersen et al. (2004) y Jones and Allison (2007), demuestran que varias interleucinas y proteínas de fase aguda incrementan la concentración plasmática después de diversos estímulos como procesos infecciosos y lesiones tisulares; es así, como todos los animales expuestos a *E. cyclocarpum* tuvieron elevaciones del fibrinógeno, en el grupo 4 alcanzó valores de 1400 mg/dl en la primera medición post exposición ratificando el aumento de su síntesis durante la fase aguda del proceso tóxico. En los grupos expuestos, los valores oscilaron entre los 800 y 1400 mg/dl en pocas horas, datos que explicarían lesión sistémica corroborada por los hallazgos clínicos, paraclínicos y patología (en especial en el tracto digestivo). La utilidad de la medición del fibrinógeno como indicador de lesión tisular aguda, sería una ayuda diagnóstica de la intoxicación por esta planta; concordante con lo reportado para proteínas de la fase aguda en el ganado bovino (Gruys et al., 2005).

4.1 Referencias

Aregheore EM. 1999. Nutritive and antinutritive value of some tree legumes used in ruminant livestock nutrition in Pacific island countries. *Journal of South Pacific Agriculture*. Vol. 6: 50-61.

Borges V, Ferraz HB. 2006. Tremors. *Rev Neuroc*. 14:43-47.

Espinasse J, Kuiper R, Schelcher F. 1995. Physiopathologie du complexe gastrique. In *Nutrition des ruminants domestiques — ingestion et digestion* (ed. R. Jarrige, Y. Ruckebusch, C. Demarquilly, M. -H. Farce and M. Journet), 805-852. INRA, Paris.

Gruys E, Toussaint M, Niewold T, Koopmans S. 2005. Acute phase reaction and acute phase proteins. *J Zhejiang Univ Sci B*. 6: 1045–1056.

Harper HA. 1982. Rodwell VW and Mayes PA. Manual de química fisiológica. 5a ed. Sao Paulo: Atheneu; 1982.

Jones ML, Allison R. 2007. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. *Vet Clin North Ame* 23:377-402.

Mendonça F d S, Evencio J, Baratel L, Doria R, Freitas S, Pelegri F, Cruz R, Ferreira E, Colodel, E. 2009. Natural and Experimental Poisoning of Cattle by *Enterolobium contortisiliquum* Pods (Fabaceae Mimosoideae) in Central-Western Brazil. *Acta vet Brno*. 78: 621-625.

Negrón G, Parra O, Avila N, Hoet A. 1993. Efecto experimental del fruto del *Enterolobium cyclocarpum* (Kara-Kara) en el ganado bovino. *Rev Cient (Maracaibo)*, 3: 1-6.

Peña JD, Grosso DH, Doncel B, Lozano MC y Moreno CA. 2011. Intoxicación natural con el fruto de *Enterolobium cyclocarpum* (caracaro) en bovinos alimentados con pasturas de *Brachiaria decumbens* en los Llanos orientales Colombianos: reporte de caso. *Rev Colomb*

Cienc Pecu. 24: 556.

Petersen H, Nielsen JP, Heegaard PM. 2004. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. Vet Res. 35: 163–187.

Tokarnia C, Döbereiner J, Dutra I, Brito L, Chagas B, França T, Brust L. 1999. Experimentos em bovinos com as favas de *Enterolobium contortisiliquum* e *E. timbouva* para verificar propriedades fotossensibilizantes e/ou abortivas Pesq Vet Bras. 19: 39-45.

Villa NA, Ceballos A, Ceron D, Serna CA. 1999. Valores bioquímicos sanguíneos en hembras Brahman bajo condiciones de pastoreo Pesq Agropec Bras. 34: 2339-2343.

Wang Y, Majak W, McAllister T. 2012. Frothy bloat in ruminants: Cause, occurrence, and mitigation strategies. Anim Feed Sci and Tech. 172: 103– 114.

Capítulo 5. Conclusiones y recomendaciones

5.1 Conclusiones

La exposición de bovinos a frutos de *E. cyclocarpum* bajo las condiciones agroecológicas de los Llanos Orientales de Colombia indujo dos formas de presentación clínica y patológica: 1) Aguda que afectó el sistema digestivo (timpanismo y diarrea), la piel (fotosensibilización), renal y el sistema nervioso cuando se utilizó la dosis alta (20 g/kg PV diaria) o dosis baja pero repetida (10 g/kg PV diaria) y otro subcrónico cuando se suministró una dosis baja (10 g/kg PV) con manifestaciones en los mismos sistemas aunque transitorias con diferente grado de severidad.

En este estudio se encontraron diferencias con la evaluación del potencial toxicológico de *E. cyclocarpum* de los Llanos Orientales de Colombia en comparación con otras zonas del mundo como Brasil y México, en especial la gama de lesiones y grado de severidad de las mismas aunque algunas fueron descritas pero en especies diferentes.

El timpanismo espumoso y la diarrea fueron el principal signo del tracto digestivo, los temblores musculares, la depresión, aislamiento, la postración y opistotonos en el sistema nervioso y la fotosensibilización como consecuencia de la lesión hepática y posiblemente microcirculatoria.

Los resultados de las pruebas paraclínicas fueron consistentes con la clínica y la anatomopatología hubo afección hepática, renal, alteraciones del leucograma y aumento en el fibrinógeno. La evaluación de pruebas paraclínicas constituyen apoyo al diagnóstico de cuadros sospechosos de intoxicación por *E. cyclocarpum*.

El estudio aporta elementos útiles de apoyo para el diagnóstico clínico, anatomopatológico, algunas bases para entender la intoxicación y define aspectos fundamentales para el manejo de la misma ya que no existe literatura de la especie vegetal y los efectos tóxicos para bovinos en Colombia.

5.2 Recomendaciones

Teniendo en cuenta las variaciones clínicas y patológicas con estudios en otras regiones del mundo, se deben hacer estudios de la caracterización comparativa de aspectos fitoquímicos de *E. cyclocarpum* en Colombia.

Dilucidar al papel de los metabolitos de *E. cyclocarpum* a través de nuevos estudios *in vitro* o *in vivo* que refinan los efectos sobre diversos grupos celulares p ej. Célula endotelial, hepatocito, enterocitos y epitelio de los pre-estómagos.

Definir mecanismos para el manejo de esta especie vegetal en las zonas de riesgo con el fin de evitar el accidente toxico en bovinos y la conservación de la planta.

Evaluar las dosis máximas sin alteraciones en el organismo para incluirlo en la dieta de bovinos, adaptar los animales al consumo y administrarlo a animales próximos a la venta o descarte.

Es fundamental adelantar acciones de capacitación que permitan el manejo ecológico y seguro de *E. cyclocarpum* en zonas de riesgo en nuestro país con el fin de minimizar la posibilidad del accidente tóxico y erradicación de la planta.